

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS MAGNÉTICOS DO TIPO MAGNETITE PARA
APLICAÇÃO EM HIPERTERMIA

André Gonçalo Fernandes Alves

Dissertação
MESTRADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA

2014

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS MAGNÉTICOS DO TIPO MAGNETITE PARA
APLICAÇÃO EM HIPERTERMIA

André Gonçalo Fernandes Alves

Dissertação

MESTRADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA

Orientadora: Prof. Doutora Maria de Deus Carvalho

2014

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero deixar um especial agradecimento à minha orientadora, Professora Doutora Maria de Deus Carvalho, pois foi graças à sua orientação e a todos os conhecimentos transmitidos que pude desfrutar de todo o trabalho que realizei. Obrigado pelos conselhos e palavras amigas que me transmitiu ao longo deste trabalho e pela total disponibilidade sempre que necessitei.

Deixo também uma palavra de apreço à Professora Doutora Liliana Ferreira, pelo auxílio prestado na aquisição e análise dos espectros de Mössbauer e durante os estudos relacionados com o aparelho de hipertermia. Agradeço toda a paciência e compreensão que demonstrou para comigo e todos os momentos de *brainstorming* que tivemos.

Agradeço também à Professora Doutora Maria Margarida Cruz, na aquisição e ajuda na análise de dados de magnetometria SQUID, bem como nos estudos e análise dos resultados referentes às medidas realizadas com o aparelho de hipertermia.

Os meus agradecimentos à Professora Doutora Maria Helena Mendonça pelos conselhos e apoio dados ao longo deste trabalho e aos restantes membros do grupo de Química do Estado Sólido, do Departamento de Química e Bioquímica da FCUL, que sempre me incentivaram e me alegraram nos momentos menos bons.

Quero agradecer também à minha colega de laboratório, Sofia Mendo, por toda a ajuda dada não só no início, como durante toda a realização deste trabalho e pelos momentos de companheirismo e conversas que tivemos.

Não podia deixar de agradecer também aos meus “colegas eletroquímicos”, Tânia Frade e Daniel Siopa, que para além de todo o apoio dado, proporcionaram-me momentos de descompressão preciosos.

Por fim, agradeço à minha família, por estarem sempre por perto nos momentos bons e maus e por todo o amor que me transmitem todos os dias. Um especial obrigada à minha irmã, Adriana, por estar sempre pronta a ajudar-me e pela paciência que tem tido todos estes anos para me aturar.

Resumo

A otimização das características dos materiais magnéticos passíveis de serem utilizados em aplicações biomédicas, como o tratamento de cancro por hipertermia magnética, passa necessariamente por uma boa caracterização das suas propriedades e pela correta avaliação das suas capacidades de libertação de energia sob a forma de calor por indução magnética.

Neste trabalho foram sintetizadas várias amostras de nanopartículas (NPs) de tipo magnetite recorrendo a diferentes métodos de síntese, tendo como objetivo a obtenção de NPs com tamanhos relativamente pequenos. Para além de algumas metodologias usuais, e em alternativa ao uso de surfactantes, foram efetuadas sínteses em meio gelatinoso. Foi ainda realizado um estudo exploratório de inserção de NPs de magnetite em MCM-41, material já conhecido em aplicações na área da biomedicina. Para a caracterização estrutural e morfológica das NPs recorreu-se à difração de raios-X de pós, à espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier e à microscopia eletrónica de transmissão. As propriedades magnéticas de todas as amostras foram estudadas por espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe e por magnetometria SQUID. Após otimização do sistema experimental de aquecimento por indução magnética, foi avaliada a capacidade das NPs para aplicação em hipertermia magnética.

Relativamente à síntese de NPs, os resultados obtidos mostraram que os métodos de síntese utilizados originaram NPs com um tamanho médio semelhante (≈ 11 nm), embora com alguma dispersão de tamanhos. Foi ainda possível verificar que todas as amostras são do tipo $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (magnetite oxidada), sendo de realçar que as NPs obtidas em meio de gelatina apresentaram o menor grau de oxidação. Todas as partículas exibiram um comportamento do tipo ferrimagnético. Na presença de MCM-41, as sínteses deram origem a NPs de tamanhos mais baixos (≈ 9 nm) e com comportamento superparamagnético, vantajoso para utilização em aplicações biomédicas.

No que diz respeito às medidas de libertação de energia calorífica, durante a otimização do sistema experimental foram identificados vários parâmetros, não associados às características das NPs, que influenciam os resultados experimentais. As medidas realizadas tiveram em conta essas variáveis, sendo de destacar o melhor desempenho da amostra sintetizada em gelatina, com um valor de taxa de absorção específica a rondar os 180 W g^{-1} .

Palavras-chave: nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, propriedades magnéticas, taxa de absorção específica.

Abstract

The optimization of the magnetic materials properties, important for biomedical applications such as the treatment of cancer by magnetic hyperthermia, requires a good characterization and a correct evaluation of their ability to release energy in the form of heat by magnetic induction.

In this work, several samples of magnetite nanoparticles (NPs) were prepared by different synthesis methods, with the aim of obtaining NPs with relatively small sizes. Apart from some usual methods, and as an alternative to surfactants, syntheses were carried out in gelatinous medium. An exploratory study was also performed in order to insert magnetite NPs in MCM-41, a material already known for applications in the biomedical field. The structural and morphological characterization of the NPs was performed by powder X-ray diffraction, Fourier transform infrared spectroscopy and transmission electron microscopy. The magnetic properties of all samples were studied by ^{57}Fe Mössbauer spectroscopy and SQUID magnetometry. After optimization of the experimental set-up for heating by magnetic induction, the NPs ability to be used in magnetic hyperthermia was evaluated.

Regarding the synthesis of the NPs, the results showed that the synthesis methods used originated NPs with a similar average size (≈ 11 nm), although presenting sizes dispersion. It was also possible to verify that all samples are of the type $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (oxidized magnetite), the NPs obtained in gelatine medium showing the lowest degree of oxidation. All particles exhibited a ferrimagnetic type behaviour. In the presence of MCM-41, the synthesis gave rise to NPs with lower sizes (≈ 9 nm) and with superparamagnetic behaviour, a characteristic advantage for biomedical applications.

Concerning the measures of heat energy release, during the experimental set-up optimization, several experimental critical parameters, not related to the NPs properties, were identified, influencing the experimental results. The measurements were performed taking these factors into account, and the best performance of the sample synthesized in gelatine medium, with a specific absorption rate value of around 180 W g^{-1} , can be underlined.

Keywords: $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ nanoparticles, magnetic properties, specific absorption rate.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice	vii
Índice de figuras	ix
Índice de tabelas	xiii
Lista de símbolos e abreviaturas.....	xv
Enquadramento do trabalho na instituição	xix
1. Introdução	1
1.1. Hipertermia magnética	2
1.1.1. Propriedades magnéticas dos materiais	4
1.1.2. Processos de libertação de calor e determinação da taxa de absorção específica	8
1.2. Nanopartículas de magnetite	11
1.2.1. Estrutura e propriedades	11
1.2.2. Métodos de síntese	13
1.2.3. Magnetite em materiais mesoporosos: aplicação em medicina	14
2. Síntese das amostras	17
2.1. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$	17
2.2. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41	20
3. Caracterização das amostras	23
3.1. Caracterização estrutural e morfológica.....	23
3.1.1. Difração de raios-X de pós	23
3.1.2. Espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier.....	26
3.1.3. Microscopia eletrónica de transmissão	27

3.2. Caracterização Magnética	28
3.2.1. Espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe	28
3.2.2. Magnetometria SQUID	31
4. Medidas de hipertermia magnética.....	33
4.1. Otimização do sistema	34
4.1.2. Condições experimentais das medidas	40
5. Resultados e Discussão.....	41
5.1. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$	41
5.1.1. Caracterização estrutural e morfológica	41
5.1.2. Caracterização magnética	48
5.1.3. Medidas de hipertermia magnética	56
5.2. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ suportadas em MCM-41	62
5.2.1. Caracterização estrutural e morfológica	62
5.2.2. Caracterização magnética	66
5.2.3. Medidas de hipertermia magnética	70
6. Conclusões e perspectivas futuras	73
7. Estimativa técnico-económica.....	77
Bibliografia.....	79
Anexos.....	93

Índice de figuras

Figura 1.1. Aplicações clínicas das nanopartículas magnéticas (adaptado de [7]). IRM – imagiologia por ressonância magnética; SPIONs – Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro (<i>Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles</i>).	1
Figura 1.2. Esquema do tratamento de cancro por hipertermia magnética.	2
Figura 1.3. Tomografia axial computadorizada (TAC) de um paciente com um glioblastoma (à esquerda) e de um paciente com cancro de próstata (à direita) sob aquecimento promovido por nanopartículas magnéticas envoltos nos tecidos dos tumores (adaptado de [16, 20])......	3
Figura 1.4. Comportamento de materiais magnéticos na presença ou ausência de um campo magnético (adaptado de [21]).	4
Figura 1.5. Variação do número de domínios em relação ao tamanho das partículas. ...	5
Figura 1.6. Curvas de magnetização em função da temperatura (em cima) e do campo magnético aplicado (em baixo), abaixo (esquerda) e acima (direita) da temperatura de bloqueio, típicas de um comportamento superparamagnético.	6
Figura 1.7. Comportamento de uma nanopartícula ferri- ou ferromagnética na presença de um campo magnético variável. M – magnetização, H – Campo magnético aplicado. 7	
Figura 1.8. Esquemas representativos de movimentos de relaxação (a) Browniana e (b) de Néel.	8
Figura 1.9. Estrutura da magnetite (à esquerda) e distinção dos lugares tetraédrico e octaédrico (à direita); (adaptado de [50]).	12
Figura 1.10. Estrutura em arranjo hexagonal característica do MCM-41. (adaptado de [99]).	15
Figura 2.1. Imagens representativas da síntese de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ pelo método de precipitação (à esquerda) e por refluxo (à direita).	17
Figura 2.2. Ilustração das propriedades magnéticas das amostras sintetizadas.....	18
Figura 2.3. Comparação dos volumes de 1 g de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (à esquerda) e 0,2 g de MCM-41 (à direita).	20
Figura 3.1. Espetro de emissão de raios-X do Cu (adaptado de [104]).	23
Figura 3.2. Esquema elucidativo da lei de Bragg (adaptado de [105]).	24
Figura 3.3. Esquema de um espectrómetro Mössbauer funcionando em geometria de transmissão (adaptado de [115]).	29

Figura 3.4. Esquema do decaimento radioativo do ^{57}Co , a partir do qual se obtém ^{57}Fe por captura eletrônica (CE). O núcleo de ^{57}Fe está inicialmente no 2º nível de energia excitado. Com 85 % de probabilidade, o núcleo decai para o 1º estado excitado, com energia média de 14,4 keV e cerca de 100 ns de tempo médio de vida, decaindo depois para o estado fundamental com a emissão da radiação γ de 14,4 keV necessária ao efeito Mössbauer.....	29
Figura 4.1. Montagem do equipamento de medidas de libertação de calor (hipertermia magnética).	33
Figura 4.2. Esquema representativo da estrutura do suporte isolante e posicionamento do recipiente contendo a amostra.	35
Figura 4.3. Suportes avaliados para as medidas de hipertermia magnética: polietileno expandido (EPE), poliuretano (PU), poliestireno expandido (EPS, esferovite) e cortiça de baixa (C1), média (C2) e alta (C3) granulagem.	35
Figura 4.4. Estudo das curvas de arrefecimento utilizando diferentes materiais isolantes.	36
Figura 4.5. Variação da temperatura utilizando suportes de EPS e cortiça C3, na presença de um campo magnético alternado durante 300 s.....	37
Figura 4.6. Curvas de variação de temperatura obtidas no estudo da avaliação de diferentes recipientes.	38
Figura 4.7. Ilustração da área de medição das amostras após alterações.	39
Figura 4.8. Gráfico de variação de temperatura de uma amostra de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ dispersa em meios distintos e imagem do estado da dispersão após medição: a) água destilada e b) citrato de sódio.	39
Figura 5.1. Difractogramas de raios-X das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por métodos distintos. As linhas na parte inferior representam os dados da ficha da magnetite.	41
Figura 5.2. Resultados do refinamento dos difratogramas de raios-X para as amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas.....	43
Figura 5.3. Espectros de FTIR das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtidas segundo metodologias distintas.....	44
Figura 5.4. Imagens de TEM e respetivos gráficos de distribuição de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por precipitação simples e na presença de surfactante (SDS).....	46
Figura 5.5. Imagens de TEM e respetivos gráficos de distribuição de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por precipitação na presença de gelatina, ágar, e pelo método de refluxo.....	47

Figura 5.6. Espectros Mössbauer de ^{57}Fe obtidos a 290 K, referentes às amostras AM1, AM4 e AM5.	49
Figura 5.7. Espectros Mössbauer de ^{57}Fe obtidos a 290 K, referentes às amostras AM9, AM20 e AM19.	50
Figura 5.8. Espectro Mössbauer de ^{57}Fe obtido a 290 K, referente a uma amostra de magnetite comercial.....	51
Figura 5.9. Curvas de magnetização em função da temperatura (300 K) medidas a 50 Oe e curvas de magnetização em função do campo aplicado das amostras AM1, AM4 e AM5.	54
Figura 5.10. Curvas de magnetização em função da temperatura (300 K) medidas a 50 Oe, e curvas de magnetização em função do campo aplicado das amostras AM9, AM20 e AM19.....	55
Figura 5.11. Variação de temperatura em função de tempo para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas: a) em água destilada e b) numa solução de citrato de sódio, quando sujeitas a um campo magnético alternado.	57
Figura 5.12. Efeito da aglomeração das partículas em amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas em condições diferentes, após medição de hipertermia magnética.	57
Figura 5.13. Variação da temperatura em função do tempo para nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ com diferentes tamanhos médios, quando sujeitas a um campo magnético alternado.	59
Figura 5.14. Comparação entre amostras distintas com a mesma massa: a) $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ simples, b) AMCM1 e c) AMCM2.	62
Figura 5.15. Espectros de FTIR das amostras obtidas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.	63
Figura 5.16. Difrátogramas de raios-X de pós das amostras obtidas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.....	64
Figura 5.17. Imagens TEM das amostras resultantes da síntese de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.....	66
Figura 5.18. Espectros Mössbauer obtidos a 290 K, das amostras sintetizadas.....	68
Figura 5.19. Curvas de magnetização em função da temperatura medidas a 50 Oe (à esquerda) e curvas de magnetização em função do campo aplicado a 300 K (à direita), das amostras AMCM2A (em cima) e AMCM2B (em baixo).	70
Figura 5.20. Variação da temperatura em função do tempo para as amostras sintetizadas na presença de MCM-41, quando sujeitas a um campo magnético alternado.....	71

Figura B.1. Curvas de variação de temperatura obtidas no estudo da avaliação de cortiças de diferente granulometria: C1 – baixa granulagem, C2 – média granulagem, C3 – alta granulagem.	94
Figura C.1. Espectro de FTIR de KBr, utilizado como dispersante.	95
Figura C.2. Espectro de FTIR de uma amostra de gelatina alimentar.	95
Figura C.3. Espectro de FTIR de uma amostra de ágar.	96

Índice de tabelas

Tabela 1.1. SAR de nanopartículas de tipo magnetite com diferentes tamanhos.....	11
Tabela 1.2. Alguns exemplos de métodos de síntese de magnetite normalmente usados.	13
Tabela 2.1. Designação das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ preparadas em diferentes condições.	18
Tabela 2.2. Designação das preparadas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.	21
Tabela 3.1. Posições atômicas características da estrutura da magnetite (estrutura tipo espinela; grupo $Fd3m$) para obtenção de um difratograma calculado [110].	26
Tabela 5.1. Tamanho médio da cristalite (D_{XRD}) das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por diferentes métodos.	42
Tabela 5.2. Valores de χ^2 e parâmetros de malha (a) para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtidas por diferentes métodos.	42
Tabela 5.3. D_{TEM} para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por diferentes métodos.	46
Tabela 5.4. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste aos espectros Mössbauer das amostras apresentadas nas Figuras 5.6 e 5.7. $\langle B_{\text{hf}}(\sigma) \rangle$: valor médio do campo magnético hiperfino (e desvio padrão da distribuição Gaussiana associada); δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar; Γ – largura a meia altura de cada sub-subespectro (forma Lorentziana) da distribuição Gaussiana; I: área relativa do subespectro.	51
Tabela 5.5. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste ao espectro Mössbauer da magnetite comercial (Figura 5.5). B_{hf} : campo magnético hiperfino; δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar; Γ – largura a meia altura da linha Mössbauer; I: área relativa do subespectros.	51
Tabela 5.6. Quantificação do grau de oxidação apresentado pelas amostras $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas em diferentes condições.	53
Tabela 5.7. Valores da taxa de absorção específica das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas, com base nos resultados obtidos num intervalo entre 10 e 70 s (dependendo da amostra).	58
Tabela 5.8. Valores de SAR para nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ com diferentes tamanhos médios.	59
Tabela 5.9. Condições experimentais de medida de hipertermia magnética e valores de SAR para nanopartículas de magnetite sintetizadas por diferentes métodos e com diferentes tamanhos.	61

Tabela 5.10. Valores de tamanho médio das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (D_{XRD}) sintetizadas por precipitação na presença de MCM-41.	65
Tabela 5.11. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste aos espectros Mössbauer das amostras apresentadas na Figura < $B_{\text{hf}}(\sigma)$ >: valor médio do campo magnético hiperfino (e desvio padrão da distribuição Gaussiana associada); δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar (subespetro magnético); QS: desdobramento quadrupolar (subespetro paramagnético); Γ – largura a meia altura da linha Mössbauer de cada sub-subespetro (forma Lorentziana) da distribuição Gaussiana; I: área relativa do subespetro.	69
Tabela 5.12. Valores de SAR das amostras sintetizadas na presença de MCM-41.....	71
Tabela 7.1. Preços dos reagentes usados no trabalho e custos inerentes ao trabalho realizado.....	77
Tabela 7.2. Custo (c / IVA) associado à preparação e análise das amostras por TEM (aquisição de serviços ao exterior).	78
Tabela 7.3. Custo (c / IVA) associado às técnicas de caracterização utilizadas com equipamento da FCUL/ centros de investigação (custos com consumíveis).....	78
Tabela A.1. Especificações dos reagentes utilizados.....	93
Tabela A.2. Advertências de perigo, recomendações de prudência e pictogramas.....	93
Tabela A.3. Advertências de perigo, recomendações de prudência e pictogramas.....	94

Lista de símbolos e abreviaturas

Símbolos

A – Área da curva

a – Parâmetro de malha

B_{hf} – Campo magnético hiperfino

B_{M} – Largura a meia altura da reflexão hkl da amostra

B_{ov} – Fator de temperatura isotrópico global

B_{S} – Largura a meia altura do padrão (Si)

c – Capacidade calorífica específica

$c_{\text{água}}$ – Capacidade calorífica da água

c_{vidro} – Capacidade calorífica do vidro

D_{TEM} – Tamanho médio da nanopartícula (determinada por TEM)

D_{XRD} – Tamanho médio da cristalite (determinada por XRD)

d_{hkl} – distância interplanar

f – Frequência

G – Função Gaussiana

H – Campo magnético aplicado

H_{C} – Campo coercivo

I – Área relativa do espectro

I – Intensidade de corrente

L – Função Lorentziana

M – Magnetização

m_0 – Mediana

$m_{\text{água}}$ – Massa da água

m_{NPMs} – Massa da amostra

M_R – Campo remanescente

M_S ou m_S – Magnetização de saturação

m_{vidro} – Massa do vidro

N – Número de observações

n – Ordem de difração

P – Número de parâmetros refinados

pV – Função Pseudo-Voigt

R_B – Resíduo de Bragg

R_p – Resíduo do difratograma

R_{wp} – Resíduo ponderado do difratograma

T_B – Temperatura de bloqueio

T_C – Temperatura de Curie

y_i – Intensidade observada

y_{ic} – Intensidade calculada

Γ – Largura a meia altura de cada sub-subespectro da distribuição Gaussiana ou largura a meia altura da linha de Mössbauer

δ – Desvio isomérico

ΔT – Variação da temperatura

Δt – Variação do tempo

ε – Desvio quadrupolar

η – Parâmetro de forma

θ – Ângulo de incidência ou ângulo de Bragg

λ – Comprimento de onda da radiação incidente

σ – Desvio padrão

ω_i – Peso estatístico da observação i

Abreviaturas

C1 – Cortiça de baixa granulagem

C2 – Cortiça de média granulagem

C3 – Cortiça de alta granulagem

CE – Captura Eletrónica

EPE – Polietileno Expandido

FC – *Field Cooling*

FTIR – Espectroscopia de Infravermelhos com Transformada de Fourier (do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

JCPDS – *Joint Committe on Powder Diffraction Standards*

MCM – *Mobile Crystalline Material*

NPMs – nanopartículas magnéticas

NPs – Nanopartículas

QS – Desdobramento quadrupolar (do inglês *Quadrupole Splitting*)

SAR – Taxa de Absorção Específica (do inglês *Specific Absortion Rate*)

SBA – *Santa Barbara Amorphous*

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio (do inglês *Sodium Dodecil Sulfate*)

SPIONs – Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro (do inglês *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*)

SQUID – *Superconducting Quantum Interferance Device*

TEM – Microscopia Eletrónica de Transmissão (do inglês *Transmission Electron Microscopy*)

XRD – Difração de raios-X (do inglês *X-ray Diffraction*)

ZFC – *Zero Field Cooling*

Enquadramento do trabalho na instituição

O presente trabalho foi desenvolvido no seio do grupo de Química do Estado Sólido do Centro de Química e Bioquímica (CQB), da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL).

O trabalho experimental insere-se num projeto em curso, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) (PTDC/CTM-BIO/2102/2012), intitulado “Nanopartículas magnéticas para tratamento de cancro por hipertermia”. Para além do Grupo de Química do Estado Sólido do CQB, neste projeto colaboram ainda o Centro de Física da Matéria Condensada (CFMC) da FCUL, e a Imperial College, de Londres.

Numa primeira fase, e de um modo sucinto, o projeto tem como objetivos principais a síntese e caracterização de diferentes tipos de nanopartículas magnéticas e a avaliação da taxa de absorção específica (SAR) das nanopartículas. Foi nesta parte do projeto que o presente trabalho incidiu.

Para além da grande componente de síntese e caracterização estrutural do trabalho desenvolvido, a colaboração com um grupo de investigação do Departamento de Física (CFMC) teve um papel enriquecedor na análise e discussão dos resultados, e muito especialmente no que diz respeito às propriedades magnéticas das amostras estudadas.

A instalação e otimização do equipamento de aquecimento por indução magnética, com o qual foram efetuadas as medidas de hipertermia, deu uma componente tecnológica forte ao trabalho realizado.

Embora o trabalho tenha sido todo realizado nas instalações da FCUL, foi-me possível colaborar com outros grupos, e contactar com técnicas e metodologias de trabalho distintas.

Finalmente, e uma vez que o trabalho experimental realizado se inseriu no projeto anteriormente referido, fica aqui expresso um agradecimento à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT). Este trabalho de mestrado não teria sido possível sem este apoio financeiro, que permitiu, por exemplo, a aquisição do equipamento de medidas de libertação de calor.

1. Introdução

Nos últimos anos, as nanopartículas magnéticas têm sido alvo de particular interesse pelas suas aplicações em diferentes áreas da medicina, nomeadamente em imagiologia de ressonância magnética, como veículos para o transporte de fármacos e hipertermia magnética (Figura 1.1). Estas técnicas têm beneficiado do desenvolvimento, por um lado, de novos métodos de síntese de nanomateriais e, por outro, do importante avanço das nanotecnologias [1–6].

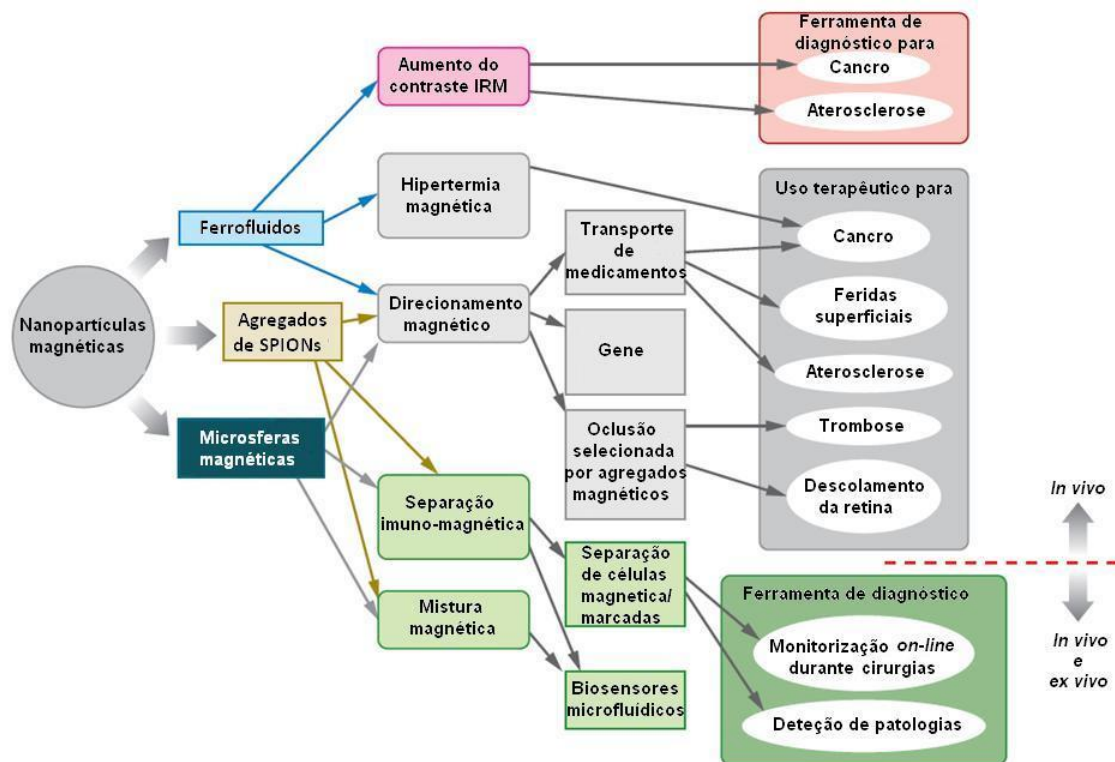


Figura 1.1. Aplicações clínicas das nanopartículas magnéticas (adaptado de [7]). IRM – imagiologia por ressonância magnética; SPIONs – Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro (Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles).

Entre as técnicas anteriormente referidas, a hipertermia magnética é talvez a menos conhecida, provavelmente por ser ainda muito pouco utilizada em ambientes clínicos [8]. A investigação realizada até agora nesta área mostra, contudo, que o seu desenvolvimento é muito promissor, podendo vir a contribuir significativamente para a melhoria da qualidade de vida de doentes com cancro (Figura 1.2).

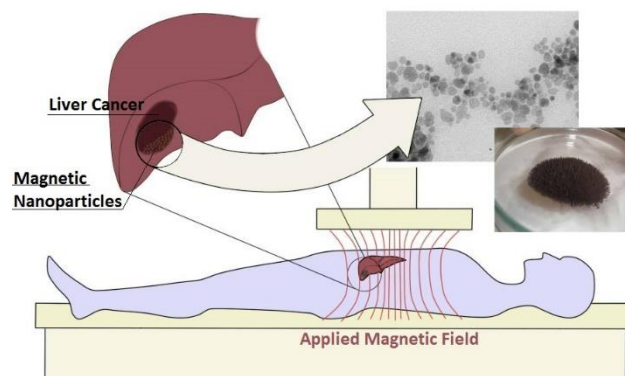


Figura 1.2. Esquema do tratamento de cancro por hipertermia magnética.

Entre as partículas magnéticas mais estudadas, as de óxidos de ferro com dimensões nanométricas, especialmente magnetite (Fe_3O_4) e maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), continuam a ser consideradas as mais indicadas para aplicações biomédicas, devido às suas propriedades magnéticas e aos requisitos de biocompatibilidade, aspetos fundamentais para hipertermia magnética.

Este trabalho teve como objetivo a síntese de nanopartículas de tipo magnetite com dimensões bastante pequenas para possível aplicação em hipertermia magnética. As nanopartículas foram sintetizadas utilizando diferentes metodologias, tendo em vista o estudo da influência do método de síntese nas propriedades magnéticas e na quantidade de energia libertada sob a forma de calor quando sujeitas à ação de um campo magnético alternado. O equipamento utilizado neste trabalho para determinação da energia libertada foi adquirido recentemente, no âmbito de um projeto em curso (PTDC/CTM-BIO/2102/2012), pelo que parte desta tese foi dedicada à instalação do equipamento e otimização do processo experimental das medidas.

Finalmente, como investigação exploratória e mantendo o objetivo global do trabalho, foi ensaiada a inserção de nanopartículas na porosidade de um material mesoporoso (MCM-41), já conhecido na literatura como suporte de fármacos em outras aplicações biomédicas [9].

1.1. Hipertermia magnética

A hipertermia magnética como técnica terapêutica tem por base o uso de nanopartículas magnéticas (NPMs) que na presença de um campo magnético alternado geram energia. Se estas partículas forem introduzidas no tecido cancerígeno, a energia

libertada pode destruir as células doentes, e portanto, ser utilizada para o tratamento de tumores. Ao contrário de outras formas de aplicação de hipertermia utilizadas atualmente [10, 11], (hipertermia regional, local ou corpo inteiro) a hipertermia induzida através do aquecimento promovido por nanopartículas magnéticas permite alargar o raio de ação do tratamento, isto é, possibilita a realização de um tratamento mais eficiente em zonas infetadas cuja localização impediria, por motivos técnicos e/ou físicos, uma atuação eficaz (ex. glioblastoma [12]). Esta técnica pode ser utilizada em dois tipos de tratamento diferentes: um aquecimento leve com temperaturas que rondam os 41-46 ° ou um aquecimento a temperaturas superiores a 46 °C que promovem a destruição das células cancerosas. No entanto, destes dois tratamentos, a segunda opção apresenta uma grande limitação comparativamente à primeira, uma vez que a temperatura a que a destruição das células cancerosas ocorre (termoablação) é muito próxima da temperatura a que ocorre destruição das células saudáveis, pelo que seria necessário um controlo da temperatura muito rigoroso [12–16]. O uso de temperaturas que rondem os 41-46 °C não permite a destruição das células infetadas mas provoca alterações nas suas propriedades aumentando assim a eficácia das técnicas que sejam usadas em paralelo, como por exemplo, a radioterapia, em que a aplicação prévia da hipertermia magnética promove a desoxigenação das células cancerosas tornando-as mais suscetíveis à radiação [17], ou a quimioterapia, cuja resistência das células infetadas às drogas usadas diminui após aquecimento [18].

Apesar de ser uma técnica ainda pouco usual, em alguns países como a Alemanha, já foram realizados testes clínicos em pacientes para o tratamento de tumores cerebrais (glioblastoma), carcinoma pancreático ou da próstata [19] (Figura 1.3).

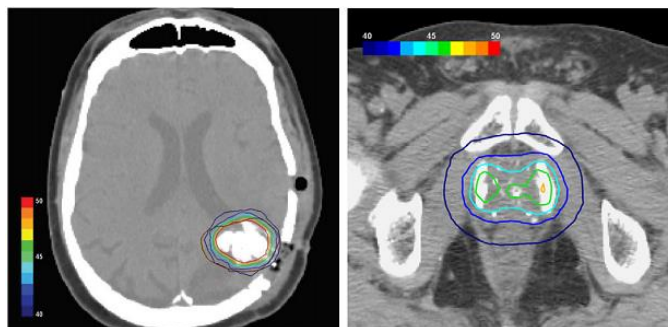


Figura 1.3. Tomografia axial computadorizada (TAC) de um paciente com um glioblastoma (à esquerda) e de um paciente com cancro de próstata (à direita) sob aquecimento promovido por nanopartículas magnéticas envoltos nos tecidos dos tumores (adaptado de [16, 20]).

1.1.1. Propriedades magnéticas dos materiais

O magnetismo dos materiais é um fenómeno de natureza quântica e que está associado ao movimento dos eletrões (momento angular orbital e de spin), ao número de eletrões desemparelhados e ao tipo de interação que se estabelece entre as espécies magnéticas na rede cristalina em que estão inseridas. A forma como os materiais reagem macroscopicamente na presença de um campo magnético permite distinguir as suas propriedades magnéticas sendo usual classificá-los como: diamagnéticos, paramagnéticos, ferromagnéticos, antiferromagnéticos e ferrimagnéticos (Figura 1.4).

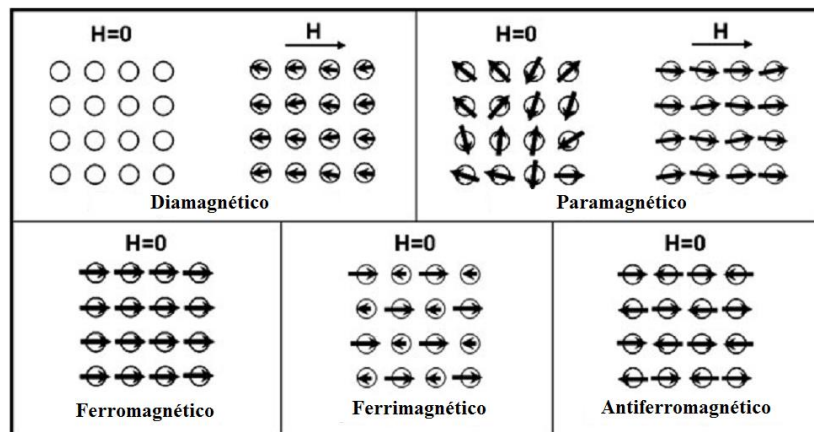


Figura 1.4. Comportamento de materiais magnéticos na presença ou ausência de um campo magnético (adaptado de [21]).

Os átomos/iões dos materiais diamagnéticos não têm eletrões desemparelhados e, portanto, não têm momento dipolar magnético associado. No entanto, a aplicação de um campo magnético induz o aparecimento de dipolos magnéticos cuja orientação é oposta à do campo magnético aplicado fazendo, consequentemente, com que o material seja repellido pelo campo. Nos materiais paramagnéticos os dipolos magnéticos existem naturalmente uma vez que os átomos/iões que os constituem têm eletrões desemparelhados mas, mesmo a baixas temperaturas, os momentos dipolares magnéticos não interagem entre si, estando aleatoriamente orientados, e o seu alinhamento só é possível por aplicação externa de um campo magnético. Como consequência desse alinhamento na direção do campo aplicado consegue medir-se o momento magnético total do material, o qual quando normalizado pela massa ou pelo volume da amostra se designa por magnetização.

Os materiais mais interessantes do ponto de vista de aplicações tecnológicas e também biomédicas são os materiais ferromagnéticos, caracterizados por terem dipolos

magnéticos permanentes que, mesmo na ausência de um campo magnético externo, interagem entre si e se alinham espontaneamente abaixo de uma certa temperatura conhecida por temperatura de Curie, T_C [21].

Nos materiais antiferromagnéticos os átomos/íons também têm momento magnético permanente mas existem geralmente duas sub-redes magnéticas cujos dipolos magnéticos têm a mesma intensidade mas orientação relativa antiparalela, provocando assim o cancelamento do momento magnético global.

Quando o momento dipolar magnético total das sub-redes do caso anterior não é totalmente cancelado, quer porque os átomos/íons são quimicamente diferentes quer porque têm valência diferente (e logo momento magnético diferente) resulta um momento magnético global diferente de zero, sendo este comportamento designado por ferrimagnetismo [22].

As partículas vulgarmente designadas por nanopartículas magnéticas (NPMs) têm um comportamento magnético do tipo ferrimagnético, ferromagnético ou superparamagnético. O comportamento superparamagnético é essencialmente um efeito de tamanho, apenas observado para as partículas mais pequenas (dependendo “pequeno” do material em causa). Este comportamento magnético pode ser explicado da seguinte forma: na ausência de campo magnético externo e para minimizar a energia do material magnético, os seus momentos magnéticos encontram-se organizados em domínios separados por paredes (Figura 1.5). Quando o tamanho das partículas diminui, verifica-se que abaixo de um determinado valor designado por tamanho crítico, e também por razões energéticas, é mais favorável a organização dos dipolos magnéticos num único domínio magnético (um monodomínio), alterando o seu comportamento.

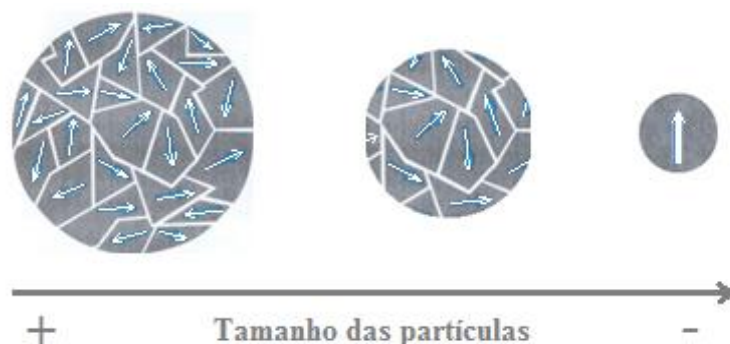


Figura 1.5. Variação do número de domínios em relação ao tamanho das partículas.

NPMs no estado superparamagnético manifestam dois comportamentos magnéticos distintos dependendo da gama de temperatura [23]. É possível distinguir estes dois comportamentos em curvas de magnetização em função da temperatura (Figura 1.6): a curva ZFC (*Zero Field Cooling*) é registada aplicando o campo magnético e subindo a temperatura, depois de arrefecer a amostra em campo nulo; a curva FC (*Field Cooling*) é medida também na subida em temperatura, depois de a amostra ter sido arrefecida no campo de medida. Verifica-se que abaixo de uma temperatura específica conhecida como temperatura de bloqueio (T_B), geralmente associada ao máximo da curva ZFC, as partículas adquirem um comportamento ferromagnético ou ferrimagnético, mas para temperaturas superiores a T_B o comportamento é do tipo paramagnético. Como em rigor as partículas continuam no estado ferro- ou ferrimagnético pois a T_C do material está acima das temperaturas de medida, esse estado acima de T_B é designado por superparamagnético.

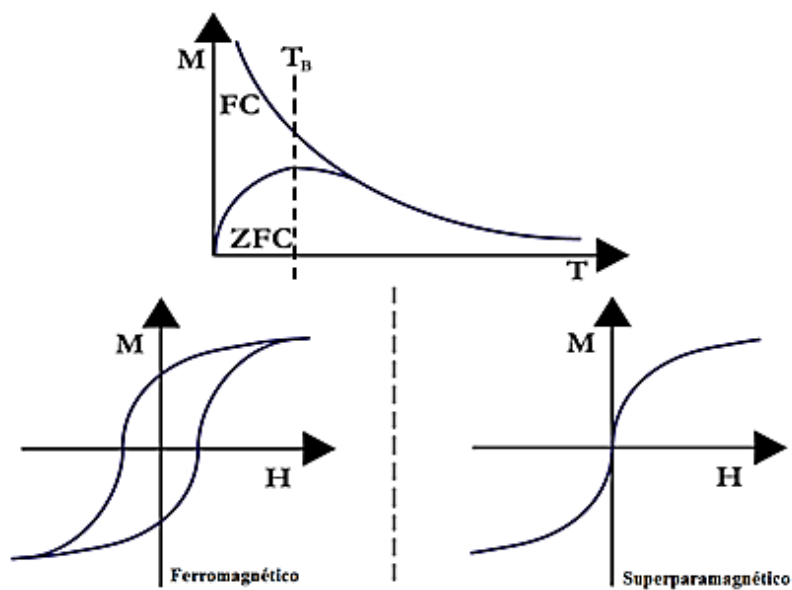


Figura 1.6. Curvas de magnetização em função da temperatura (em cima) e do campo magnético aplicado (em baixo), abaixo (esquerda) e acima (direita) da temperatura de bloqueio, típicas de um comportamento superparamagnético.

Juntamente com as curvas de magnetização em função da temperatura, a análise de curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado permite distinguir o comportamento de nanopartículas no estado ferro- ou ferrimagnético e o comportamento singular no estado superparamagnético. Quando se aplica um campo magnético cuja intensidade varie entre zero e altos campos, e tanto no sentido positivo como negativo, as nanopartículas no estado ferri- ou ferromagnético exibem uma variação típica da

magnetização, conhecida por ciclo de histerese. Com o aumento da intensidade do campo aplicado, todos os dipolos se orientam na direção do campo e atinge-se a saturação magnética $M = M_s$ (M_s - magnetização de saturação) (Figura 1.7). Quando o campo aplicado é retirado, em vez de voltar a apresentar uma magnetização nula devido à existência de multidomínios, as partículas apresentam um campo remanescente (M_R), ou seja, mantêm um determinado momento magnético total. A aplicação do campo magnético em sentido contrário permite anular a magnetização quando atingido o valor de campo magnético designado como H_c (campo magnético coercivo). A continuação do aumento da intensidade do campo em sentido inverso leva à saturação magnética nesse sentido [6]. O ciclo fecha-se variando o campo aplicado desde o máximo valor negativo até ao máximo valor positivo, com a variação do momento magnético total a percorrer um caminho diferente.

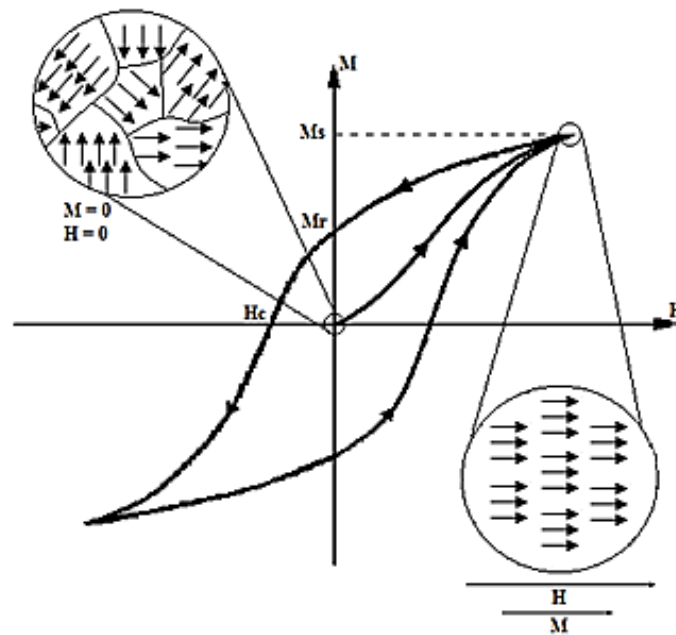


Figura 1.7. Comportamento de uma nanopartícula ferri- ou ferromagnética na presença de um campo magnético variável. M – magnetização, H – Campo magnético aplicado.

Quando as NPMs estão na fase superparamagnética (acima de T_B) a curva de magnetização em função do campo magnético (Figura 1.6) distingue-se pelo facto de apresentar um campo coercivo e magnetização remanescente nulos. Embora as nanopartículas estejam em monodomínio e com todos os momentos orientados, essa orientação conjunta muda rapidamente conferindo às nanopartículas (NPs) propriedades semelhantes à de um paramagnete. Esta característica de nanopartículas superparamagnéticas torna-se bastante vantajosa para aplicações biomédicas visto que,

quando o campo magnético é retirado, as partículas deixarão de ser atraídas umas pelas outras, diminuindo consideravelmente o efeito de agregação, indesejável para este tipo de aplicação [24].

1.1.2. Processos de libertação de calor e determinação da taxa de absorção específica

Como em qualquer forma de aplicação de hipertermia, existe sempre uma fonte geradora de calor que, no caso da hipertermia magnética, é induzida pela ação de um campo magnético alternado sobre nanopartículas magnéticas. De facto, a alternância positiva e negativa do campo aplicado com uma frequência constante gera processos de reversão da magnetização da nanopartícula levando à libertação de energia sob a forma de calor. Os processos envolvidos ocorrem fundamentalmente através de perdas por histerese (no caso de comportamentos ferro e ferrimagnético) e por relaxação. A quantidade de calor libertada dependerá da frequência e intensidade máxima do campo alternado e da natureza das partículas, ou seja, do seu tamanho, propriedades magnéticas e modificações à superfície [25]. Por não apresentarem ciclo de histerese na presença de campo magnético variável, as NPs no estado superparamagnético só libertam calor por efeitos de relaxação. Estes podem ser de dois tipos: a relaxação Browniana, associada à rotação física das NPs, e a relaxação de Néel, devida à rotação do próprio momento magnético de cada nanopartícula (Figura 1.8).

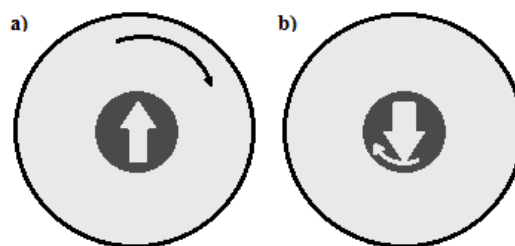


Figura 1.8. Esquemas representativos de movimentos de relaxação (a) Browniana e (b) de Néel.

Podendo ocorrer simultaneamente, a contribuição de cada um destes processos é de difícil diferenciação, mas é possível estimar qual deles predomina através da determinação do tempo de relaxação. De facto, cada um dos processos referidos tem um tempo de relaxação característico, sendo dependente das propriedades hidrodinâmicas das partículas, no caso do movimento Browniano (τ_B), e do tamanho das partículas no caso

do movimento de Néel (τ_N). Os tempos de relaxação são dados pelas equações 1.1 e 1.2 [26], respetivamente para a relaxação de Brown e de Néel:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (\text{Eq. 1.1})$$

$$\tau_N = \frac{1}{f_0} \exp \frac{KV_m}{k_B T} \quad (\text{Eq. 1.2})$$

em que η é a viscosidade do meio, V_H é o volume hidrodinâmico da partícula, k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura, f_0 é uma constante (valor aproximado 10^9 s^{-1}), V_m é o volume médio das partículas e K é a constante anisotrópica do material magnético. Quando os dois processos ocorrem em simultâneo o valor do tempo de relaxação efetivo (τ) é dado por:

$$\tau = \frac{\tau_B \tau_N}{\tau_B + \tau_N} \quad (\text{Eq. 1.3})$$

Independentemente dos processos envolvidos, a avaliação da quantidade de calor libertada é geralmente feita através da determinação da taxa de absorção específica (SAR) das NPMs, a qual representa a potência gerada por grama de amostra (W g^{-1}). A expressão que define este parâmetro é [25, 27]:

$$\text{SAR} = A \times f \approx c \times \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad (\text{Eq. 1.4})$$

onde, c é a capacidade calorífica específica ($\text{J g}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e $\Delta T / \Delta t$ é a taxa de variação da temperatura. Para partículas onde a libertação de calor está associada a perdas por histerese o valor de SAR é diretamente proporcional à área delimitada pela curva de histerese (A) e à frequência (f) do campo magnético alternado. Na prática, como se pode ver na eq. 1.4, a determinação deste parâmetro pode ser feita de forma aproximada através de uma avaliação do aumento da temperatura por unidade de tempo gerado pela libertação de calor por parte das nanopartículas magnéticas quando sujeitas ao campo magnético alternado.

A comparação de valores de SAR publicados em diferentes trabalhos de investigação é extremamente difícil uma vez que este valor depende de um grande número de outros parâmetros, tais como: as condições experimentais de medida, o tamanho das partículas, a distribuição de tamanhos, a forma das nanopartículas, a frequência e intensidade do campo aplicado, etc.

A investigação na área da síntese de NPMs para aplicação em hipertermia passa pela obtenção de partículas com valores de SAR elevados, pois quanto maior a potência gerada menor será a quantidade de nanopartículas inseridas no corpo e, consequentemente, menor será o risco tóxico para o paciente. Com base na equação 1.4 constata-se que um aumento dos valores da frequência e, portanto, da intensidade do campo magnético, levaria ao aumento dos valores de SAR. Contudo, o corpo humano não está preparado para suportar valores de campo magnético muito elevados [28]. Assim, torna-se necessário que a otimização das características físicas e magnéticas das nanopartículas (nomeadamente, o tamanho [29], o aumento da magnetização de saturação e o fortalecimento da anisotropia magnética [30]) seja feita tendo em conta a sua aplicação numa gama de valores de frequência e intensidade de corrente aplicada específica [31].

Estudos realizados com partículas magnéticas de tipo magnetite de diferentes tamanhos revelam que o valor da taxa de absorção específica encontra-se diretamente relacionado com esta propriedade física. Em vários trabalhos publicados é referido que o aumento do tamanho das partículas se traduz no aumento do valor de SAR, como se pode verificar pelo pequeno resumo apresentado na Tabela 1.1. Contudo, nesta análise, deve ser tido em conta que os estudos foram realizados sobre diferentes condições experimentais, e a determinação do valor de SAR não seguiu a mesma metodologia.

Segundo Mehdaoui *et al.* [29], esta dependência entre o valor de SAR e o tamanho das partículas pode ser explicado tendo em conta a área da curva de histerese, A , em função do diâmetro das partículas, sendo que A é diretamente proporcional ao valor de SAR (Eq. 1.4). Assim sendo, partículas de maiores dimensões apresentam um valor de A maior, o que resulta, consequentemente, num aumento do valor de SAR. No entanto, este raciocínio só será válido para nanopartículas que apresentem curvas de histerese, o que não é o caso de nanopartículas no estado superparamagnético. Por outro lado, esta aproximação não contabiliza a libertação de calor por efeito de relaxação, independentemente do comportamento magnético das partículas.

Assim, a análise da bibliografia mostra que são necessários estudos sistemáticos usando processos de medidas de SAR equivalentes no que diz respeito a condições experimentais, para a validação e possível comparação dos valores de SAR, que devem contudo, respeitar os níveis de biocompatibilidade e segurança desejáveis [32, 33], quer no que diz respeito a valores de campo magnético alternado aplicado, como às características das NPMs utilizadas.

Tabela 1.1. SAR de nanopartículas de tipo magnetite com diferentes tamanhos.

Tamanhos / nm	SAR / W g ⁻¹	[Ref.]
5	18	[26]
28	40	
45	130	
10,3	7,1	[34]
11,7	29,5	
15,2	138,3	
7,9	28	[35]
9,8	28	
11,8	150	
14,0	201	
16,5	249	
20,0	309	
10,9	216	[36]
15,2	702	
10,0	30	[37]
16,2	61	
35,2	76	

1.2. Nanopartículas de magnetite

1.2.1. Estrutura e propriedades

A magnetite (Fe_3O_4) é um mineral cuja gama de aplicações se estende para lá de estudos ou explorações geológicas [38], abrangendo, entre outras áreas, também a medicina. A sua utilização no campo da saúde remonta a tempos antigos como o antigo Egito, em que era usada para a desintoxicação após ingestão acidental de pó de ferrugem, ou mesmo antes disso, em que era utilizada para o controlo de hemorragias externas [39]. Nos últimos anos, a sua presença na área medicinal tem continuado a crescer, sendo já largamente utilizada na realização de diagnósticos clínicos via imagem por ressonância magnética (IRM), e limpeza de líquidos biológicos entre outros [40–43]. Uma aplicação mais recente da magnetite para fins medicinais é o tratamento de cancro por hipertermia magnética, uma vez que as suas propriedades magnéticas e biocompatibilidade a tornam um excelente candidato para este tipo de terapia, tendo por isso despertado um grande interesse na comunidade científica [1, 2, 8, 44–49].

Constituída por óxidos de ferro (II) e (III), a magnetite apresenta uma estrutura semelhante ao mineral espinela (MgAl_2O_4) com uma fórmula geral AB_2O_4 , em que A e

B são os catiões. O grupo espacial maioritariamente exibido pelos compostos do tipo espinela, incluindo a magnetite, é o grupo $Fd\bar{3}m$, correspondente a uma estrutura cúbica de faces centradas. Nesta estrutura, o empacotamento compacto dos aniões (neste caso oxigénio) origina dois tipos de interstícios distintos, tetraédrico e octaédrico, onde irão posicionar-se os catiões (Figura 1.9).

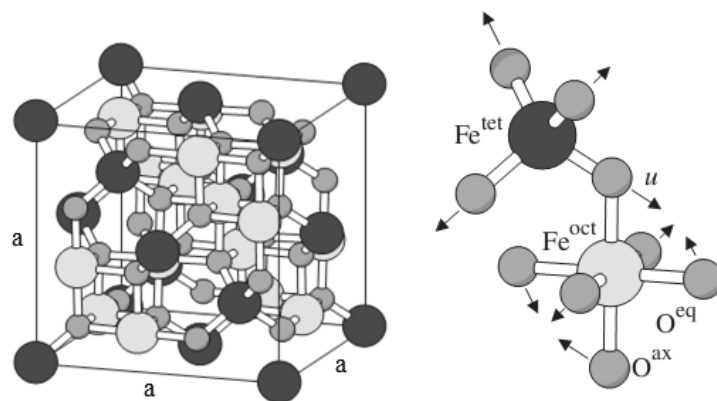


Figura 1.9. Estrutura da magnetite (à esquerda) e distinção dos lugares tetraédrico e octaédrico (à direita); (adaptado de [50]).

No caso da magnetite, as posições A (tetraédricas) são ocupadas por iões Fe^{3+} e as posições octaédricas por iões Fe^{3+} e Fe^{2+} . Assim, a estrutura pode globalmente ser descrita como $(\text{Fe}^{3+})_{\text{tet}}(\text{Fe}^{3+}\text{Fe}^{2+})_{\text{oct}}\text{O}_4$, pelo que o sítio de ferro octaédrico pode também ser considerado como sendo $\text{Fe}^{2.5+}$. A magnetite pode facilmente sofrer oxidação, especialmente quando na forma de nanopartículas, pelo que a sua formulação correta é $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, em que x depende do estado de oxidação. No caso de uma oxidação máxima ($x = 1$) esta estrutura dá origem à maghemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [51–53], onde o ferro existe apenas como Fe^{3+} . O parâmetro de malha esperado para compostos deste tipo encontra-se entre os 8 e 9 Å [51, 52, 54].

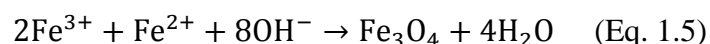
A estrutura de tipo espinela adotada pela magnetite está na origem das suas propriedades ferrimagnéticas, com valores de magnetização elevados ($M_s \approx 90 \text{ emu g}^{-1}$), muito próximo dos valores apresentados pelo ferro (material ferromagnético) [55]. Porém, tem-se verificado que este parâmetro depende de diferentes fatores, nomeadamente do método de síntese, tamanho e grau de oxidação [24]. As nanopartículas de magnetite com tamanhos $\leq 10 \text{ nm}$ que exibem um só domínio apresentam geralmente um comportamento superparamagnético. Esta característica natural e valores de magnetização elevados torna a magnetite num material muito valioso para utilização em

hipertermia magnética, mas é a sua biocompatibilidade que a destaca dos restantes [56–58].

1.2.2. Métodos de síntese

O estudo da magnetite, muito incentivado pelas suas características magnéticas, levou à sua síntese por metodologias muito diversas (Tabela 1.2), das quais resultaram partículas com uma gama de tamanhos variada e características magnéticas distintas [59].

De todas as metodologias existentes atualmente para a síntese de nanopartículas de magnetite, o método de co-precipitação (ou simplesmente precipitação) é talvez o mais usado [60–65]. A obtenção de partículas de magnetite segundo esta metodologia é regida pela seguinte equação química:



Nesta reação é adicionada uma base (OH^-) sobre uma solução estequiométrica de sais de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ em atmosfera de azoto, à temperatura ambiente ou com aquecimento.

Um outro método bastante utilizado na síntese de nanopartículas de magnetite, visto promover a obtenção de partículas com tamanhos reduzidos comparativamente ao método de co-precipitação é a decomposição térmica de precursores orgânicos (ex. acetilacetato de ferro) em solventes orgânicos (ex. difenil éter), também referida como método de refluxo.

Tabela 1.2. Alguns exemplos de métodos de síntese de magnetite normalmente usados.

Método de síntese	Temperaturas / °C	Solventes	Tamanho partícula / nm	[Ref.]
Co-precipitação	20 - 90	água	10 - 40	[62–66]
Decomposição (Refluxo)	100 - 320	orgânicos	20 - 100	[67, 68]
	150 - 220		4 - 12	[68–71]
Hidrotermal	150 - 350	água/etanol	10 - 100	[72–75]
Microemulsão	20 - 50	orgânicos	3 - 20	[76–78]

1.2.3. Magnetite em materiais mesoporosos: aplicação em medicina

A utilização de nanopartículas magnéticas para aplicações biomédicas, nomeadamente na hipertermia magnética, é feita através da sua introdução no corpo. Para que tal seja possível, as nanopartículas necessitam de ser revestidas de forma a funcionalizar a sua superfície e garantir a sua estabilidade nos fluídos fisiológicos.

O revestimento de partículas magnéticas para aplicações em biomedicina tem sido explorado usando vários tipos de compostos, tais como: polímeros (como o estireno [79]), carboidratos (como a ramnose [80]), moléculas orgânicas (como o ácido cítrico ou ácido oleico [27, 81]), enzimas (*s-formylglutathione hydrolase* [82]), etc. Para além deste tipo de composto, todos de origem orgânica, destaca-se ainda a sílica amorfa (SiO_2), que tem sido, sem qualquer dúvida, o composto mais utilizado como revestimento das NPMs. As suas características têm permitido abranger uma vasta gama de aplicações, quer a nível terapêutico, como é o caso do transporte de fármacos ou anticorpos (*drug delivery*) para órgãos ou tecidos doentes, ou a nível de diagnóstico, como em agentes de contraste para aquisição de imagens por ressonância magnética [2, 83–86]. O revestimento de nanopartículas magnéticas com sílica tem também sido um dos métodos utilizados tendo em vista aplicações em hipertermia magnética, pois, para além de ser um material de baixo custo e não-tóxico, previne a formação de aglomerados devido à diminuição dos efeitos estéricos e eletrostáticos garantindo uma elevada bioestabilidade e permite inúmeros tipos de funcionalização graças à presença de grupos silanol [84, 87–91].

Recentemente, os compostos de sílica mesoporosos, nomeadamente os MCMs (*Mobile Crystalline Material*) e SBAs (*Santa Barbara Amorphous*), têm suscitado um maior interesse, visto que as suas características peculiares permitem outras capacidades para aplicações biomédicas. Estes compostos apresentam uma matriz de poros monodispersos e de tamanhos ajustáveis (dependente da metodologia de síntese), uma superfície facilmente modificada, sendo igualmente inertes e biocompatíveis [92–95]. A sinergia entre as características destes materiais com as propriedades magnéticas das nanopartículas de ferro tem sido explorada por diferentes grupos de investigação, essencialmente tendo em vista aplicações como o transporte de fármacos [96, 97], mas também para hipertermia magnética [93, 98].

Um dos materiais mais estudados entre estes dois grupos é o MCM-41, que consiste num agregado de tubos de sílica amorfa em arranjo hexagonal (Figura 1.10) com

um volume poroso que pode alcançar valores entre 0,7 a 1,2 cm³ g⁻¹, uma área superficial que ronda os 1000 m² g⁻¹ e com dimensão de poros que dependem do método de síntese, podendo alcançar os 2 μm [99, 100].

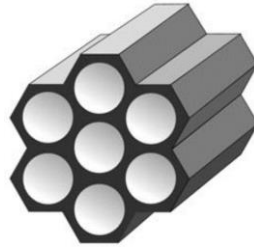


Figura 1.10. Estrutura em arranjo hexagonal característica do MCM-41. (adaptado de [99]).

Com todas as características acima referidas, entende-se que este tipo de estrutura possa ser encarada como uma excelente alternativa como veículo para uma terapêutica conjunta por libertação controlada de fármacos e hipertermia magnética.

2. Síntese das amostras

O procedimento experimental realizado neste trabalho encontra-se dividido em 4 etapas distintas: i) síntese de nanopartículas do tipo $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, ii) síntese de nanopartículas do tipo $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ em MCM-41, iii) caracterização das nanopartículas sintetizadas e iv) medidas de libertação de calor por parte das nanopartículas sintetizadas, que se designou como medidas de hipertermia magnética.

As características de todos os reagentes utilizados no decorrer deste trabalho encontram-se no anexo A.

2.1. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$

As amostras do tipo magnetite ($\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$) foram preparadas usando como base as metodologias mais comuns para obtenção deste tipo de nanopartículas: precipitação e refluxo (Figura 2.1).

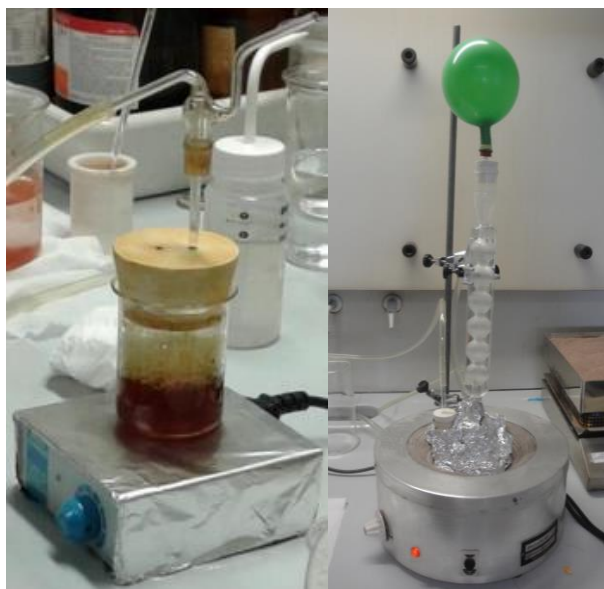


Figura 2.1. Imagens representativas da síntese de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ pelo método de precipitação (à esquerda) e por refluxo (à direita).

No caso da síntese pelo método de precipitação, e tendo em vista o controlo do tamanho das nanopartículas, estudou-se o efeito da adição de um surfactante, dodecil

sulfato de sódio (SDS), tal como já descrito na literatura [63]. Com o mesmo propósito, foi também utilizado um método de precipitação em meio gelatinoso, usando ágar e gelatina. Na Tabela 2.1 encontra-se um resumo das amostras preparadas, assim como a designação de cada amostra, que será utilizada ao longo deste trabalho.

Tabela 2.1. Designação das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ preparadas em diferentes condições.

Amostra	Método de Síntese
AM1	Precipitação
AM4	Precipitação em SDS*
AM5	Precipitação em SDS**
AM9	Precipitação em gelatina
AM20	Precipitação em ágar
AM19	Refluxo
Quantidade relativa SDS/Fe = * 1/6 e ** 1/8	

Na síntese das amostras obtidas pelo método de precipitação, seguiu-se o procedimento anteriormente utilizado por Carvalho *et al.* e Herea *et al.* [53, 101] que se baseia na utilização de uma mistura estequiométrica de cloreto de ferro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e sulfato de ferro (II) heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), diluídos em água destilada, sob atmosfera de azoto. A precipitação das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ foi provocada pela adição de uma solução de amónia (NH_4OH) em excesso relativamente à estequiometria da reação (Eq. 1.5). Durante este procedimento, foi mantida a atmosfera de azoto e agitação magnética. Após 15 minutos de agitação, o produto final foi lavado com água destilada quente até verificação da neutralização do pH, e finalmente com etanol, utilizando-se um magnete para fazer a decantação. O produto obtido foi então seco numa estufa à temperatura de 50 °C. Na Figura 2.2 encontram-se imagens do produto final obtido, que ilustram as suas propriedades magnéticas, por aproximação de um íman.



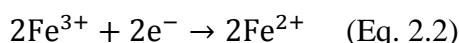
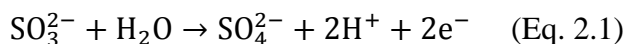
Figura 2.2. Ilustração das propriedades magnéticas das amostras sintetizadas

De uma forma geral, as sínteses foram efetuadas de modo a obter 4 g de magnetite, pelo que foram usadas cerca de 9,187 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 4,726 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e cerca

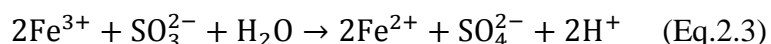
de 20 mL de uma solução de amónia (25%) em cada síntese. Esta metodologia foi globalmente usada para todas as amostras obtidas por precipitação.

No caso das sínteses AM4 e AM5 o surfactante (SDS) foi adicionado à mistura de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ antes da adição de NH_4OH , tendo esta mistura sido mantida sob agitação durante 15 min. Como alternativa ao uso deste tipo de aditivos, utilizou-se um método mais “amigo do ambiente”, fazendo a precipitação das nanopartículas numa solução de gelatina alimentar, tendo-se também sintetizado uma amostra num meio contendo uma solução de ágar (AM9 e AM20). A solução de gelatina foi preparada através da dissolução de uma folha de gelatina (3,920 g) em 100 mL de água destilada, que foi mantida em agitação magnética durante 30 min de modo a obter um grau de viscosidade considerado satisfatório. A solução de ágar foi preparada de forma semelhante. Em ambos os casos, foram adicionados 40 mL da solução de gelatina (ou ágar) à solução contendo a mistura de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, mantendo a atmosfera sobre azoto.

A síntese das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ pelo método de refluxo (AM19) foi baseada na metodologia proposta por Salado *et al.* e Sun *et al.* [71, 69], ao qual foi feita uma alteração: foi adicionado 0,54197 g de sulfito de sódio (Na_2SO_3 , estequiometria $\text{Fe}^{3+}/\text{SO}_3^{2-}$ de 3:1) com o objetivo de reduzir parcialmente o Fe^{3+} a Fe^{2+} . Tendo em conta as seguintes reações de oxidação-redução:



tem-se que,



Nesta reação a estequiometria $\text{Fe}^{3+}/\text{SO}_3^{2-}$ é de 1:0,5. Tendo em vista a obtenção de Fe_3O_4 (2Fe^{3+} e 1Fe^{2+}) a estequiometria a usar, de acordo com a equação 2.3 deveria ser de 6:1. No entanto, a proporção de sulfito usada para esta reação foi de 3:1 ($\text{Fe}^{3+}/\text{SO}_3^{2-}$), de modo a garantir a redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} , anteriormente referido por outros autores que utilizam sulfito como agente redutor [53, 102].

Assim, para um produto final de 1 g, usaram-se 4,558 g de acetilacetato de ferro ($\text{Fe}(\text{acac})_3$), 40 mL de difenil éter ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}$), 13,8 mL de oleilamina ($\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}$) e 13,3 mL de ácido oleico ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$), que foram colocados num balão de fundo redondo. Para garantir uma mistura homogênea dos reagentes, o balão contendo os reagentes foi colocado durante 10 min em ultra-sons. O balão foi então adaptado a uma manta de

aquecimento, sob atmosfera de azoto, e mantido sob refluxo durante um período de 1 h, a cerca de 250 °C, temperatura de ebulição do difenil éter. Após arrefecimento do balão, o produto final foi lavado com água destilada quente e etanol de modo a eliminar o excesso de reagentes, usando, tal como anteriormente, um imã para separar as nanopartículas. Tal como para as sínteses anteriormente referidas, o produto obtido foi seco numa estufa à temperatura de 50 °C.

2.2. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41

Com o intuito de inserir nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ num material mesoporoso, foram realizadas duas sínteses de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ por precipitação, na presença de MCM-41. À semelhança das apresentadas na Tabela 2.1, estas sínteses foram efetuadas através da precipitação de uma mistura estequiométrica de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dissolvidos em água destilada, sob atmosfera de azoto, mas na presença de MCM-41. Foram realizadas duas sínteses, utilizando quantidades diferentes de MCM-41, (0,200 g e 0,400 g), que foi adicionado antes da adição da solução de amónia. A escolha das quantidades de MCM-41 foi feita tendo por base a comparação do volume de MCM-41 com o volume de 1 g de uma amostra de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (Figura 2.3).

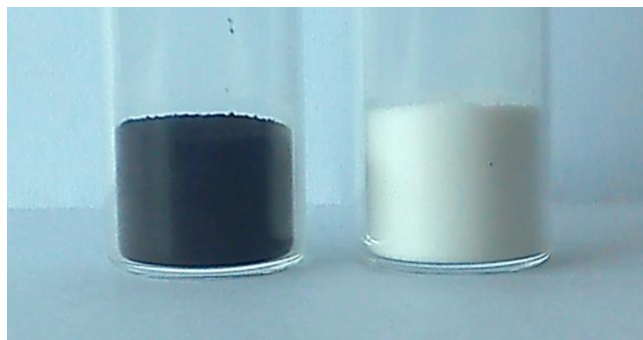


Figura 2.3. Comparação dos volumes de 1 g de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (à esquerda) e 0,2 g de MCM-41 (à direita).

Ambas as sínteses foram efetuadas de forma a obter 1 g de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ pelo que foram usadas cerca de 2,329 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1,198 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MCM-41 (0,200 g e 0,400 g) e cerca de 10 mL de uma solução de amónia (25%). A adição da solução de amónia levou imediatamente à precipitação de um pó acastanhado, que foi separado em duas etapas, originando assim duas amostras (A e B) por cada síntese efetuada. O primeiro lote (A) corresponde às partículas que se depositaram de imediato por ação do ímã, e o

segundo lote (B) diz respeito às partículas que permaneceram suspensas na solução, e que demoraram mais tempo a decantar. A lavagem dos produtos foi feita com água destilada (até verificação de pH neutro) e etanol, e a secagem foi efetuada numa estufa a 50 °C. Na Tabela 2.2 estão resumidas as sínteses obtidas neste procedimento.

Tabela 2.2. Designação das preparadas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.

Amostras	Massa de MCM-41 /g
AMCMM1A	0,200
AMCMM1B	
AMCMM2A	0,400
AMCMM2B	

O MCM-41 usado nesta tese foi sintetizado com base na metodologia descrita por Nunes *et al.* [103]. Sumariamente, a síntese iniciou-se com a mistura de duas soluções preparadas da seguinte forma: 1) diluição de 10,0 g de uma solução de silicato de sódio em 30 mL de água destilada e 2) dissolução de 7,5 g de brometo de tetradeciltrimetilamónio (agente estruturante) em 80 mL de água destilada. Esta mistura foi agitada durante 60 min, à temperatura ambiente, e o seu pH foi ajustado para 10 com o auxílio de ácido sulfúrico 2 M e hidróxido de sódio 2 M. Este produto foi então transferido para autoclaves, que foram colocadas numa estufa a 100 °C durante 48 h. O sólido resultante foi filtrado e lavado com água destilada quente. Após a lavagem, o sólido foi novamente aquecido a 60 °C durante 24 h. Finalmente, o sólido foi moído e calcinado numa mufla a 540 °C durante 6 h [103], com posterior arrefecimento até à temperatura ambiente (1 °C min⁻¹).

3. Caracterização das amostras

3.1. Caracterização estrutural e morfológica

3.1.1. Difração de raios-X de pós

A técnica de difração de raios-X (XRD) é uma técnica que permite determinar a estrutura de uma amostra cristalina, e portanto, permite obter diversos parâmetros relacionados com a sua estrutura. De uma forma muito resumida, a determinação da estrutura baseia-se na análise de um feixe de raios-X difratado, após incidir sobre um material cristalino.

Os raios-X são originados a partir da colisão de elétrons de elevada energia, obtidos através do aquecimento de um filamento de tungsténio, sobre um alvo metálico (ânodo). O alvo metálico mais usual é o cobre (Cu) e o feixe de elétrons incidente apresenta energia suficiente para provocar a ionização dos átomos alvo. Com a expulsão dos elétrons da camada K (1s), elétrons de camadas vizinhas (2p ou 3p) transitam de forma a ocupar os lugares vazios, resultando por sua vez na emissão de energia sob a forma de radiação, respetivamente radiação K_{α} (transição 2p \rightarrow 1s) e K_{β} (transição 3p \rightarrow 1s) (Figura 3.1) cujos comprimentos de ondas são características do ânodo utilizado.

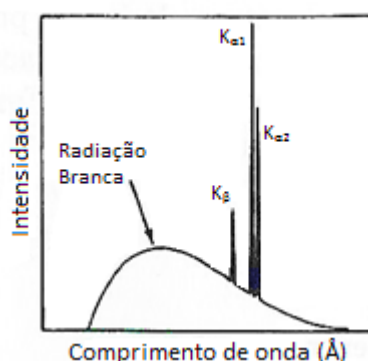


Figura 3.1. Espectro de emissão de raios-X do Cu (adaptado de [104]).

Quando é feita a incidência de um feixe de raios-X sobre uma amostra cristalina, parte deste feixe será difratado pelos planos presentes no material e o restante é

transmitido. Esta difração resulta da interferência construtiva entre feixes adjacentes que se encontram em fase, tal como esquematicamente apresentado na Figura 3.2.

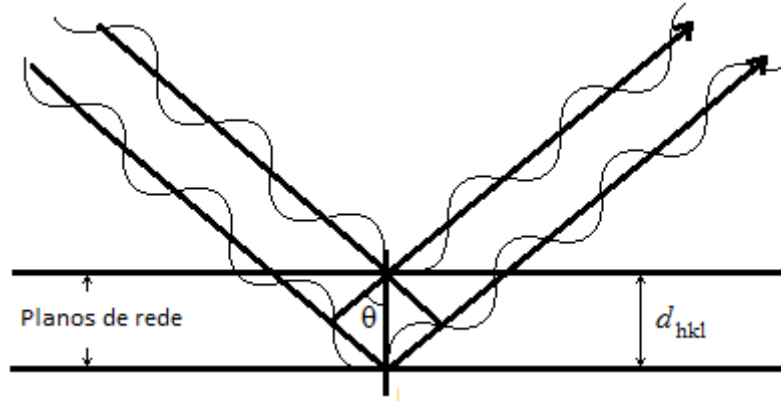


Figura 3.2. Esquema elucidativo da lei de Bragg (adaptado de [105]).

A interferência construtiva ocorre quando é observada a equação 3.1, conhecida como lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (\text{Eq. 3.1})$$

onde n é a ordem de difração, λ o comprimento de onda da radiação incidente, d_{hkl} é a distância interplanar e θ o ângulo de incidência ou ângulo de Bragg.

A difração de raios-X de pós permite essencialmente a identificação da estrutura global da amostra e verificação do seu grau de pureza e cristalinidade. A forma do difratograma resultante é influenciada por diversos fatores tais como parâmetros experimentais e ainda: cristalinidade (afeta a largura e a intensidade das riscas), tamanho (importante na largura da risca para o caso de nanomateriais) e simetria da célula unitária (afeta o número de riscas de difração e valores de 2θ observados), o número atômico e a posição dos vários elementos na célula unitária (influenciam a intensidade relativa das riscas de difração).

A diminuição do tamanho das cristalites, e muito particularmente à escala nanométrica, provoca um alargamento dos picos de difração, pelo que a análise dos difratogramas permite determinar o tamanho médio das cristalites, D_{XRD} , calculado através da equação de Scherrer [8, 9, 105, 106]:

$$D_{\text{XRD}} = \frac{0,89\lambda}{\sqrt{B_M^2 - B_S^2} \cos \theta} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

em que λ é o comprimento de onda da radiação utilizada (neste caso, foi utilizada a radiação $K_{\alpha 1}$, com $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$), θ o ângulo de Bragg, B_M a largura a meia altura da reflexão hkl da amostra (utilizou-se o plano de difração de maior intensidade) e B_S a largura a meia altura do padrão (Si), ambos em radianos. O fator 0,89 é o valor normalmente aplicado quando estão em causa partículas esféricas [107].

Neste trabalho, foi utilizado um difratômetro de pós Philips Analytical PW 3050/60 X'Pert PRO equipado com um detetor X'Celerator, utilizando uma ampola de cobre (radiação $K\alpha$) como feixe incidente. A aquisição de dados foi feita automaticamente, recorrendo ao software X'Pert Data Collector, entre 10 e 80° (2θ) para as amostras de magnetite, e também entre 1 e 10° para as amostras contendo MCM-41.

A amostra a analisar foi colocada, uniformemente, num porta-amostras de Si amorfo, sendo então colocado no suporte para amostras do difratômetro, com a superfície plana do pó virada para cima.

O refinamento da estrutura das amostras de tipo magnetite foi efetuado pelo método de Rietveld [108] recorrendo ao programa *FullProf* [109]. O refinamento da estrutura por este método é feito por comparação do difratograma experimental com um modelo teórico, calculado e ajustado através de diferentes parâmetros experimentais e instrumentais, e ainda parâmetros relacionados com a estrutura do composto em estudo, designadamente, o grupo espacial, parâmetros da célula unitária, posições cristalográficas de todos os átomos/iões que constituem o composto, e fatores de ocupação.

A função utilizada para definir a forma dos picos foi a função Pseudo-Voigt, que mistura as funções Gaussiana e Lorentziana, e é dada pela expressão:

$$pV = \eta L + (1 - \eta)G \quad (\text{Eq. 3.3})$$

onde, pV é a função Pseudo-Voigt, η o parâmetro de forma (mistura das funções Gaussiana e Lorentziana), L a função Lorentziana e G a função Gaussiana.

Por fim, uma avaliação da qualidade de refinamento é efetuado através de três fatores de concordância: R_{wp} , resíduo ponderado do difratograma, R_p , resíduo do difratograma e R_B , resíduo de Bragg. A qualidade do ajuste da linha calculada proveniente do refinamento com a linha experimental é quantificada através do valor de χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{\sum_i w_i (y_i - y_{ci})^2}{N - P} \quad (\text{Eq. 3.4})$$

onde y_i e y_{ci} são respetivamente as intensidades observadas e calculadas para a posição $2\theta_i$ e w_i é o peso estatístico da observação i , $(1/y_i)$. N representa o número de observações e P o número de parâmetros refinados.

Neste trabalho, o refinamento por este método teve como objetivo a determinação do valor de parâmetro de malha, que, desta forma, é obtido com maior rigor do que o obtido quando se usam apenas os valores dos picos de difração de cada família de planos. O refinamento foi efetuado deixando variar os seguintes parâmetros: fator de escala, desvio do zero (posição), ruído de fundo (polinómio de grau 5), parâmetros de malha, a forma e largura do perfil dos picos, fator de temperatura isotrópico global (B_{ov}) e, por fim, posição atómica do oxigénio (a única que pode ser refinada na estrutura da magnetite).

Na Tabela 3.1 apresentam-se os valores das posições atómicas e dos fatores de ocupação, utilizados nos refinamentos efetuados. Como anteriormente referido, a posição do oxigénio foi a única que foi refinada tendo-se iniciado todo o refinamento com o valor de $u = 0,25307$ [110].

Tabela 3.1. Posições atómicas características da estrutura da magnetite (estrutura tipo espinela; grupo $Fd\bar{3}m$) para obtenção de um difratograma calculado [110].

Átomo	Posição*	x	y	z	Ocupação
Fe1	8a	0,1250	0,1250	0,1250	0,04166
Fe2	16d	0,5000	0,5000	0,5000	0,08332
O	32e	u	u	u	0,16666

* Posição cristalográfica (notação de Wyckoff).

3.1.2. Espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica muitas vezes complementar de outras, normalmente usada para o controlo da qualidade de amostras e identificação dos grupos funcionais nelas presente [111]. Esta técnica espectroscópica (de absorção) abrange toda a região do infravermelho do espectro eletromagnético, tirando proveito das frequências de vibração específicas (níveis vibracionais) apresentadas pelas ligações químicas das substâncias. Basicamente, ao incidir uma radiação com energia na região do infravermelho sobre uma amostra, esta radiação atingirá as moléculas presentes gerando alterações no comportamento vibracional e rotacional das mesmas, possibilitando a obtenção de informações relativas

à geometria molecular [112]. O uso desta técnica no corrente trabalho teve como propósito a identificação de algumas ligações químicas das amostras. No caso da magnetite, as bandas referentes à ligação Fe-O referentes às posições tetraédrica e octaédrica são esperadas a valores de ≈ 590 e 450 cm^{-1} , respetivamente [113]. Relativamente ao MCM-41, deverão ser observadas as bandas correspondentes à elongação e deformação de ligações Si-O na gama de número de onda entre cerca de 800 e 3500 cm^{-1} . [103, 114].

A análise das amostras foi realizada para uma região de infravermelho de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ num espectrofotómetro Nicolet 6700 FTIR, onde o programa de aquisição utilizado foi OMNIC Specta 2.0.302. Foi realizado um *background* a cada 30 minutos. A amostra a analisar foi moída, juntamente com KBr, num almofariz de ágata até se obter um pó fino, sendo posteriormente prensado de maneira a obter uma pastilha semi-transparente.

3.1.3. Microscopia eletrónica de transmissão

No estudo de materiais nanométricos é usual recorrer-se à microscopia eletrónica de transmissão (TEM), com o objetivo de obter informação sobre o tamanho das partículas. Nesta técnica, um feixe de eletrões viaja ao longo de uma coluna de vácuo, sendo posteriormente focado e acelerado a um potencial suficientemente elevado para atravessar a amostra até ao detetor que se encontra por baixo. A amostra deve apresentar uma espessura relativamente fina de modo a possibilitar a passagem do feixe e consequentemente a visualização das partículas. As imagens obtidas por este método possibilitaram uma avaliação da forma e distribuição de tamanhos das nanopartículas sintetizadas.

Neste trabalho, foi utilizado um microscópio JEOL 2010 FEG, pertencente ao Instituto de Ciência e Engenharia de Materiais e Superfícies (ICEMS) do Instituto Superior Técnico (IST). A preparação das amostras para caracterização foi feita colocando a amostra, previamente dispersa em etanol, numa grelha de cobre, apropriada ao microscópio. Com o objetivo de obter informação sobre a distribuição do tamanho das partículas, foi utilizado o programa *ImageJ*.

3.2. Caracterização Magnética

3.2.1. Espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe

A espectroscopia Mössbauer baseia-se na emissão e absorção de radiação gama por parte dos núcleos atômicos. Tanto a emissão da radiação γ pelo núcleo emissor como a absorção da mesma radiação γ pelo núcleo recetor (fenómeno ressonante) devem acontecer sem recuo dos núcleos respetivos, o que é possibilitado pelo facto de tanto o núcleo emissor como o recetor estarem inseridos em redes cristalinas sólidas [115].

Um sistema de espectroscopia Mössbauer (Figura 3.3) é composto, no essencial, pelas partes discriminadas a seguir (¹):

- Uma fonte radioativa onde átomos de ^{57}Co (neste caso, de 50 mCi) inseridos numa matriz de ródio decaem para ^{57}Fe , povoando, ao fim de algum tempo, o 1º estado excitado de ^{57}Fe . Ao fim do tempo médio de vida desse estado, os núcleos decaem para o estado fundamental emitindo um raio γ com uma energia média de 14,4 keV. (Figura 3.4). A fonte está instalada no eixo central de um motor que realiza movimentos de vaivém na horizontal e com aceleração constante, atingindo uma amplitude máxima de alguns milímetros e uma velocidade máxima de cerca de 11 mm s⁻¹. Devido ao efeito Doppler, a velocidade conferida à fonte radioativa (ora positiva ora negativa, dependendo do sentido do movimento) permite modular a energia média dos raios γ por ela emitidos.

- A amostra em estudo, rica em ferro, onde existem cerca de 2 % de núcleos de ^{57}Fe (abundância natural deste isótopo) no estado de energia fundamental. Estes núcleos vão absorver os raios γ emitidos pelos núcleos da fonte, passando para o 1º estado excitado (caracterizado por uma energia média de 14,4 keV).

- Um sistema de deteção da radiação γ (detetor, pré-amplificador, amplificador e seletor de energia) que permite detetar os raios γ com energia média de 14,4 keV que não são absorvidos pela amostra em estudo.

- Um analisador multicanal (512 canais), um computador e um *software* adequado que, juntamente com a eletrónica de controlo do motor e durante o tempo necessário à obtenção de uma boa estatística, conseguem acumular um espectro Mössbauer. Nos

¹ Para facilitar a exposição, faz-se já referência às particularidades do espectrómetro usado neste trabalho

espectros Mössbauer o nº de contagens é apresentado em função da velocidade do motor [115]. A calibração do espectro, ou seja, a correspondência entre a energia do raio γ detetado e a velocidade do motor, é feita relativamente ao espectro obtido com uma lâmina de α -Fe.

Os núcleos de ^{57}Fe , cujas propriedades físicas estão já bem determinadas experimentalmente, interagem com a vizinhança em que estão inseridos, possibilitando a recolha de informação sobre o estado de oxidação do ferro, sobre a distribuição e geometria das cargas elétricas à sua volta, sobre as interações magnéticas em que estejam envolvidos e, quando mais do que um composto está presente, sobre a percentagem relativa de cada um deles na amostra em estudo.

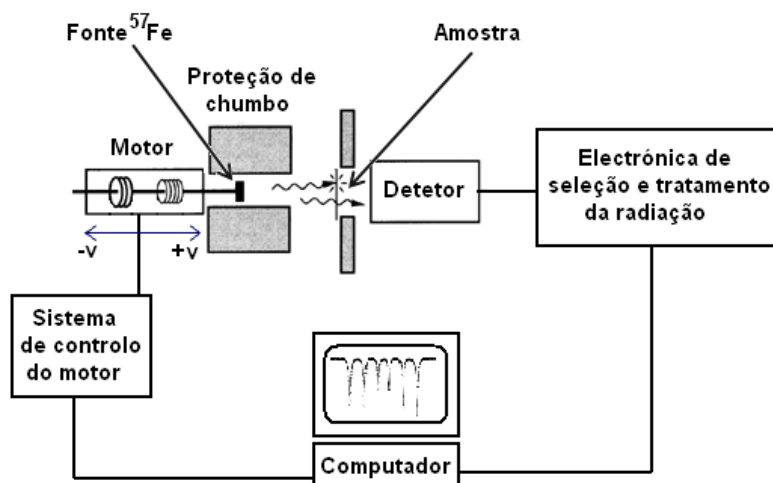


Figura 3.3. Esquema de um espectrómetro Mössbauer funcionando em geometria de transmissão (adaptado de [115]).

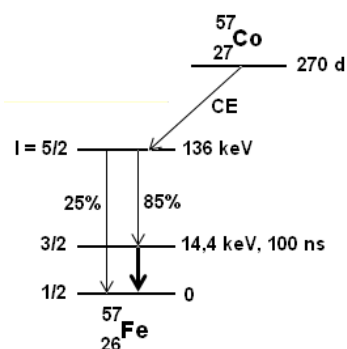


Figura 3.4. Esquema do decaimento radioativo do ^{57}Co , a partir do qual se obtém ^{57}Fe por captura eletrónica (CE). O núcleo de ^{57}Fe está inicialmente no 2º nível de energia excitado. Com 85 % de probabilidade, o núcleo decai para o 1º estado excitado, com energia média de 14,4 keV e cerca de 100 ns de tempo médio de vida, decaindo depois para o estado fundamental com a emissão da radiação γ de 14,4 keV necessária ao efeito Mössbauer.

Às interações entre os núcleos de ferro e a sua vizinhança, de natureza elétrica e magnética, dá-se o nome de interações hiperfinas, por terem origem nuclear. Na prática, estas interações refletem-se em três tipos de espectros Mössbauer: singletos (espectros apenas com uma linha de absorção), quando não há interação magnética e a distribuição de cargas em volta do núcleo tem simetria cúbica; doubletos (espectros com duas linhas de absorção), quando não há interação magnética mas a distribuição de cargas não tem simetria cúbica; e, finalmente, sextetos (espectros com 6 linhas de absorção), quando há interação magnética. Os sextetos são simétricos relativamente ao seu canal central se a distribuição de cargas em volta do núcleo é cúbica, e assimétricos no caso contrário. Cada sítio cristalográfico de ferro dá origem a um espectro. Assim, se numa amostra existe mais do que um “tipo” de ferro, o espectro total será constituído por tantos subespectros quantos os diferentes sítios de ferro [115].

Os espectros resultantes das medidas de espectroscopia Mössbauer foram ajustados com recurso a um conjunto de programas de análise (WinNormos-for-Igor[®]), a partir dos quais se extraíram os valores dos parâmetros hiperfinos de cada sítio de ferro e a sua percentagem relativa. Os parâmetros hiperfinos são definidos como:

- O *desvio isomérico*, δ , relacionado com a densidade de eletrões s no núcleo. Este parâmetro hiperfino é sensível ao estado de oxidação, ao estado de spin e às propriedades das ligações químicas tais como a covalência e a eletronegatividade. Embora os eletrões p , d e f não penetrem no espaço nuclear, eles podem influenciar indiretamente, por blindagem, a densidade eletrónica dos eletrões s e através deles o valor do desvio isomérico. Os valores de δ apresentados são relativos ao desvio isomérico do ferro metálico à temperatura ambiente.

- O *desdobramento quadrupolar*, QS , é diferente de zero quando a distribuição de carga dos eletrões de valência é não-cúbica e/ou quando a simetria local das cargas iónicas da rede cristalina em volta do ião de ferro também não é cúbica. Deste parâmetro retiramos informação sobre o estado de oxidação do ferro e sobre a simetria local da posição cristalográfica do ferro. Quando o núcleo de ferro está simultaneamente sujeito a uma interação magnética, este parâmetro é muitas vezes designado por *desvio quadrupolar* usando-se o símbolo ϵ para o diferenciar de QS .

- O *campo magnético hiperfino*, B_{hf} , que é não nulo quando o núcleo sente um campo magnético proveniente da interação magnética de longo alcance entre os diferentes iões que o envolvem.

Na análise dos espectros Mössbauer apresentados neste trabalho foram utilizados dois tipos de ajuste: um, em que o espectro (ou subespetro) pode ser considerado como um conjunto de linhas de absorção de perfil Lorentziano e que fica bem definido por um único valor de cada um dos parâmetros hiperfinos δ , QS (ou ϵ) e B_{hf} ; outro, em que o espectro (ou subespetro) só fica bem ajustado se se considerar uma distribuição Gaussiana de vários subespetros (ou sub-subespetro) de perfil Lorentziano, estando a distribuição associada ao parâmetro QS (no caso de doubletos) ou ao parâmetro B_{hf} (no caso de sextetos). Este segundo tipo de ajuste é muito frequente em espectros Mössbauer de nanopartículas.

3.2.2. Magnetometria SQUID

As medidas de magnetização foram realizadas em função da temperatura entre 10 K e 390 K, sob um campo magnético aplicado de 50 Oe. As curvas ZFC (*Zero Field Cooling*) foram obtidas após arrefecimento em campo nulo, desde a temperatura ambiente. As curvas FC (*Field Cooling*) foram obtidas após arrefecimento no campo de medida. As curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado foram realizadas a 300 K variando o campo entre -55 e +55 kOe.

Todas estas medidas foram realizadas com um magnetómetro SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*), Quantum Design-MPMS, do Centro de Física da Matéria Condensada da FCUL.

4. Medidas de hipertermia magnética

A determinação do valor da taxa de absorção específica (SAR) foi efetuada com base na análise de resultados obtidos nas medidas de libertação de calor das amostras, quando submetidas a um campo magnético externo de corrente alternada.

Estas medidas foram realizadas com equipamento apropriado, constituído essencialmente por uma fonte de alimentação (EASYHeat 0224 FF CE, *Ambrell*), uma bobine de Helmholtz de duas espiras, um sistema de refrigeração (Chilly 25-S, *Hyfra*) e um pirómetro ótico FTP-LN2 (sensor – *FLUOTEMP Fiber Optical Temperature Sensor System*). A instalação do sistema foi realizada seguindo o manual do equipamento (“*Operation and Maintenance Instructions Easy Heat*”). A incorporação do sistema de refrigeração permite a redução dos gastos de água necessária para promover o arrefecimento da fonte. A montagem do equipamento encontra-se na Figura 4.1.

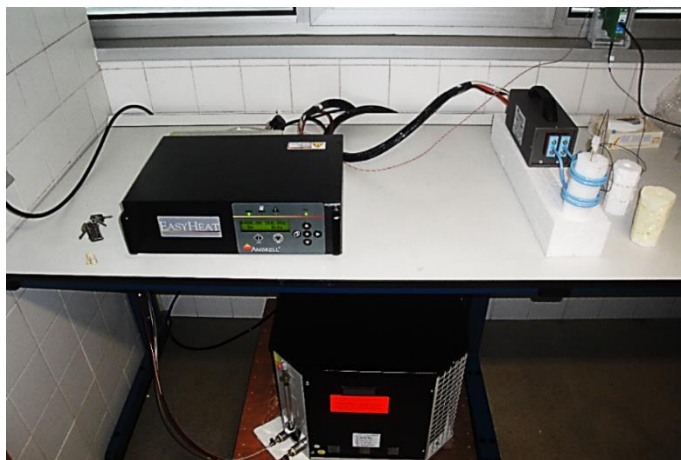


Figura 4.1. Montagem do equipamento de medidas de libertação de calor (hipertermia magnética).

Como este equipamento foi adquirido recentemente, para além da instalação, tornou-se necessário efetuar a otimização das condições experimentais para realizar estes ensaios, de modo a garantir medições da variação de temperatura em função do tempo de forma reproduzível. Finalmente, e após otimização do processo, procedeu-se à avaliação da capacidade de libertação de calor por parte das amostras sintetizadas.

4.1. Otimização do sistema

Este procedimento foi dividido em: i) teste do material isolante envolvendo a amostra, ii) avaliação do tipo de recipiente onde é colocada a amostra, iii) meio de dispersão.

Através de dados referidos na literatura [8, 81, 116, 117], foi estabelecido que a frequência resultante da aplicação da corrente seria de 275 kHz. A bobine utilizada para este propósito foi uma bobine de Helmholtz de duas espiras. Este tipo de bobine permite que o campo magnético seja homogêneo entre as duas espiras. De forma a obter a referida frequência, os condensadores utilizados foram de 0,17 μ F, tendo-se aplicado uma corrente de 400 A.

i. Teste do material isolante envolvendo a amostra

Uma vez que as medidas de hipertermia devem ser efetuadas colocando a amostra no centro de uma bobine de Helmholtz, e de forma a evitar perdas de calor, foi efetuado um estudo de diferentes materiais isolantes para envolver a amostra.

Tendo-se verificado que o recipiente tem de permanecer imóvel e centrado para que o campo magnético aplicado seja uniforme ao longo de toda amostra e não haja variações nos resultados devido a oscilações do recipiente, obtendo assim medições reproduzíveis, procurou-se um suporte que, não só garantisse a estabilidade do recipiente, como também apresentasse propriedades isolantes que minimizassem as perdas de calor para o exterior. Com este objetivo, foi efetuado um estudo prévio usando diferentes materiais isolantes, de forma a selecionar o material mais adequado para servir de suporte, com a forma e dimensões apresentadas no esquema da Figura 4.2.

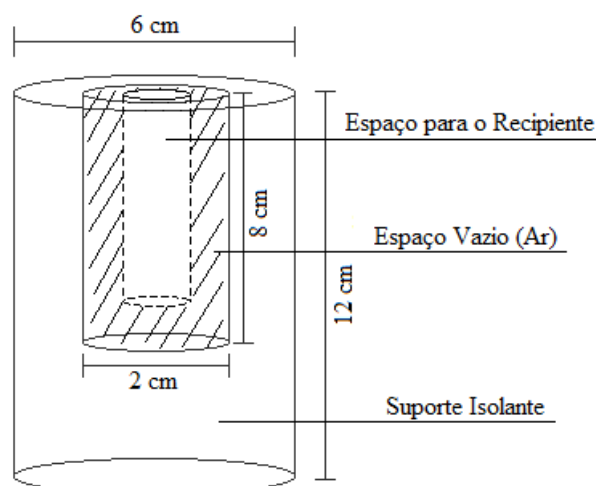


Figura 4.2. Esquema representativo da estrutura do suporte isolante e posicionamento do recipiente contendo a amostra.

Foram construídos recipientes com as dimensões adequadas ao uso da bobine de duas espiras, usando diferentes materiais: polietileno expandido (EPE), poliuretano (PU), poliestireno expandido (EPS, esferovite) e cortiça (gentilmente cedida pela Corticeira Amorim) de baixa (C1), média (C2) e alta (C3) granulagem. Na Figura 4.3 apresenta-se uma imagem dos suportes estudados.



Figura 4.3. Suportes avaliados para as medidas de hipertermia magnética: polietileno expandido (EPE), poliuretano (PU), poliestireno expandido (EPS, esferovite) e cortiça de baixa (C1), média (C2) e alta (C3) granulagem.

Para efetuar a avaliação destes materiais, foi medida a curva de arrefecimento de 3 mL de água destilada previamente aquecida. A água foi inserida num *eppendorf* e este colocado no suporte. Com o auxílio do pirómetro ótico FTP-LN2 e do programa *Photon Control TPMeter10 FTC-DIN-GT-HT Utility Software*, foi registada a variação da

temperatura durante 40 minutos. Este procedimento foi realizado para cada suporte e os resultados obtidos encontram-se na Figura 4.4.

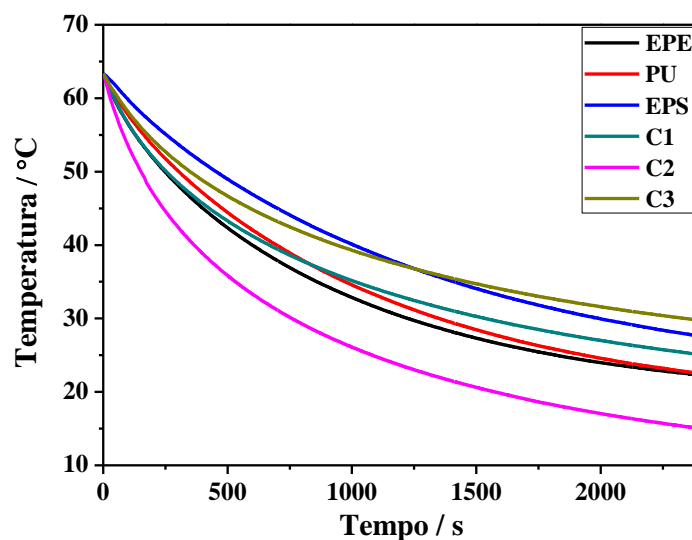


Figura 4.4. Estudo das curvas de arrefecimento utilizando diferentes materiais isolantes.

A análise do gráfico permite verificar que o EPS e o suporte de cortiça com maior granulação (C3) são aqueles que apresentam uma perda de calor mais lenta, tendo por isso sido considerados os melhores candidatos para utilizar como material isolante. Com estes dois suportes, foi realizada uma nova avaliação onde, ainda com água destilada, foi aplicado um campo magnético cuja corrente aplicada (I) foi de 400 A com uma frequência (f) de 275 kHz, durante 5 min. As respostas medidas para estas condições encontram-se apresentadas na Figura 4.5.

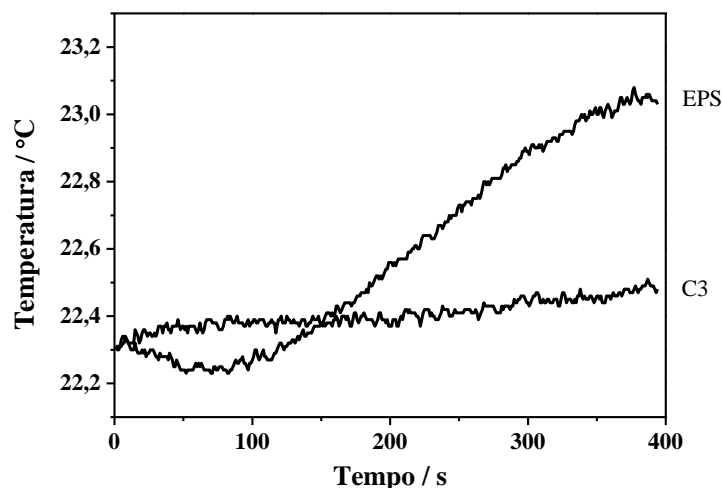


Figura 4.5. Variação da temperatura utilizando suportes de EPS e cortiça C3, na presença de um campo magnético alternado durante 300 s.

Comparando os resultados obtidos nas duas avaliações, escolheu-se a cortiça (C3) para fazer as medidas de hipertermia magnética das amostras sintetizadas. O efeito da oscilação da temperatura exterior sobre o suporte provocado pela bobine é praticamente nulo no caso da cortiça, sendo que o mesmo não é possível dizer para o EPE, ou seja, em termos de isolamento por convexão, a cortiça é superior ao EPE, e, por isso, foi escolhida para a realização das medidas apresentadas ao longo do trabalho. As cortiças de baixa e média granulometria apresentam resultados distintos comparativamente à cortiça C3 (Anexo B) o que não altera a escolha do material de suporte.

ii. Avaliação do tipo de recipiente onde é colocada a amostra

Com o suporte de cortiça de maior granulometria (C3) a apresentar as melhores características, foi feita de seguida uma avaliação do recipiente onde seria inserida a amostra, tendo-se ensaiado os seguintes recipientes: eppendorf (3 mL), frasco de vidro (8 mL), tubo fino (1 mL), tubo de ensaio médio (10 mL) e frasco *Ambrell* (4 mL).

Este estudo foi realizado pela medida da variação de temperatura de cada recipiente contendo 3 mL de água destilada, suspenso no ar, quando aplicado um campo magnético alternado: corrente (I) de 400 A e frequência (f) de 275 kHz (correspondentes a um valor de campo magnético máximo de ≈ 120 Oe), durante 300 s. Os resultados deste estudo apresentam-se na Figura 4.6.

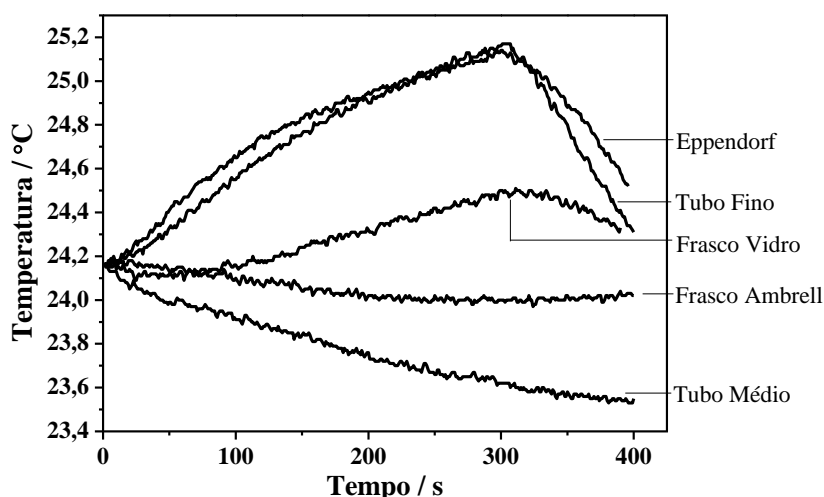


Figura 4.6. Curvas de variação de temperatura obtidas no estudo da avaliação de diferentes recipientes.

A partir deste estudo, considerou-se que o frasco denominado *Ambrell* é o mais indicado, visto ser aquele que apresenta menor variação de temperatura, ou seja, menor influência por parte de variações de temperatura do exterior.

Tendo como base os diversos ensaios anteriormente mencionados, o suporte e recipiente escolhidos para as medições de hipertermia das amostras sintetizadas foram a cortiça de maior granulometria (C3) e o frasco *Ambrell*.

No decorrer destas avaliações, verificou-se a necessidade de fixar o suporte, garantindo assim que a posição do recipiente fosse sempre a mesma, tendo ainda sido adicionada uma tampa de acrílico, com o objetivo de diminuir a influência da temperatura exterior da área de medição. A Figura 4.7 mostra a montagem final do equipamento, com as alterações efetuadas com base no estudo das condições de medição.

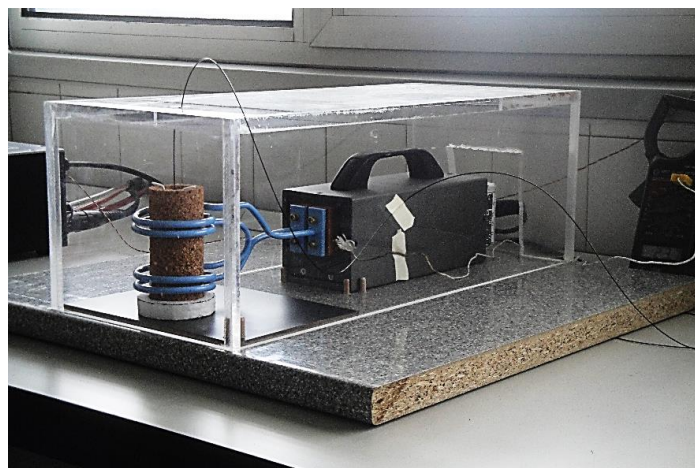


Figura 4.7. Ilustração da área de medição das amostras após alterações.

iii. Meio de dispersão

Todos os estudos prévios anteriormente apresentados foram realizadas utilizando apenas água destilada, o que em termos de dispersão da amostra pode não ser o meio ideal. De forma a estudar a influência do meio de dispersão, foram feitas novas medidas de variação de temperatura, quando 3 mg de uma amostra de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ foi dispersa em 3 mL de uma solução de 5 % de citrato de sódio [118]. Os valores obtidos foram comparados com medidas efetuadas nas mesmas condições experimentais, mas utilizando água destilada e encontram-se apresentados na Figura 4.8.

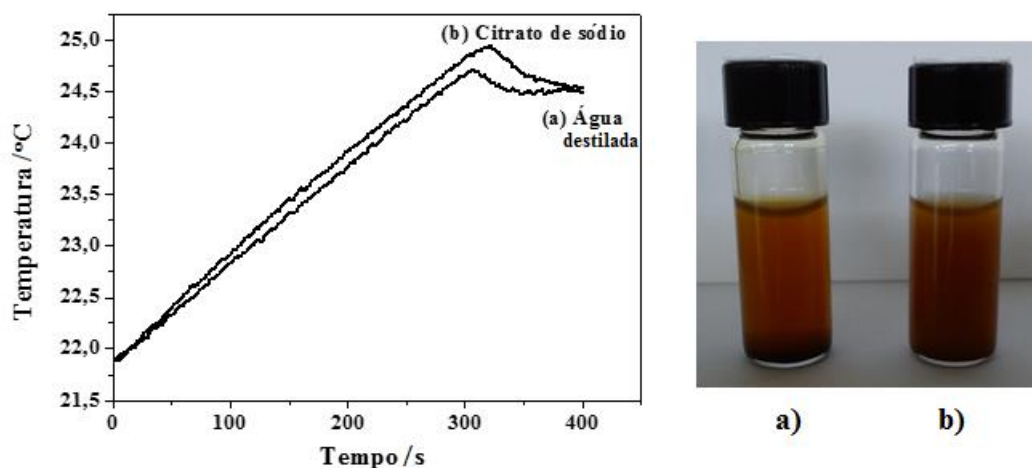


Figura 4.8. Gráfico de variação de temperatura de uma amostra de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ dispersa em meios distintos e imagem do estado da dispersão após medição: a) água destilada e b) citrato de sódio.

Como é evidente tanto pela imagem exibida à direita do gráfico como pela variação de temperatura (Fig. 4.8), o uso de citrato de sódio beneficiou a dispersão das

partículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$. Este pequeno estudo mostra claramente que a dispersão das partículas é um fator preponderante em estudos deste tipo, o que se explica pelo facto de quanto maior a dispersão, maior o número de partículas que contribuirão para a libertação de energia, qualquer que seja o mecanismo envolvido.

4.1.2. Condições experimentais das medidas

Todas as medidas apresentadas ao longo desta tese foram realizadas utilizando um frasco *Ambrell*, onde 3 mg de amostra a analisar foram dispersas em 3 mL de água destilada e, de igual modo, numa solução de citrato de sódio (5 %). A dispersão das amostras foi efetuada recorrendo ao uso de um sistema de ultra-sons, onde a amostra foi colocada durante 1 h. O recipiente foi então colocado no interior do suporte de cortiça (C3) que se encontrava entre as espiras da bobine de Helmholtz. O campo magnético de corrente alternada foi aplicado durante 5 min, utilizando os seguintes parâmetros: uma corrente (I) de 400 A e uma frequência (f) a 275 kHz. Nestas condições o valor máximo de campo magnético alternado aplicado será de ≈ 120 Oe.

5. Resultados e Discussão

5.1. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$

5.1.1. Caracterização estrutural e morfológica

Os difratogramas obtidos por XRD para as amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas (Tabela 2.1), encontram-se expostos na Figura 5.1. As posições referentes aos planos característicos ((111), (220), (311), (440), etc.) de uma estrutura cúbica tipo espinela, AB_2O_4 , foram identificadas para todas as amostras (de acordo com a ficha: JCPDS 89-0691). Não foram detetados picos extra, pelo que se pode deduzir que as amostras sintetizadas pelos diferentes métodos correspondem a uma fase única do tipo $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$.

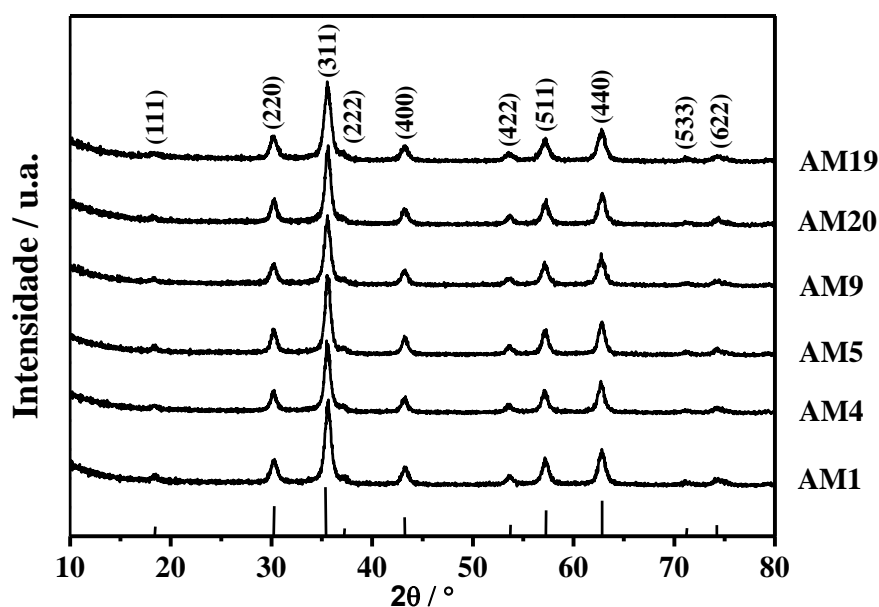


Figura 5.1. Difratogramas de raios-X das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por métodos distintos. As linhas na parte inferior representam os dados da ficha da magnetite.

A partir da equação 3.2 foi calculado o tamanho médio das cristalites para cada amostra, usando o pico de maior intensidade, correspondente ao plano (311), cujos resultados se encontram apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Tamanho médio da cristalite (D_{XRD}) das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por diferentes métodos.

Amostra	D_{XRD} /nm
AM1	11
AM4	12
AM5	12
AM9	11
AM20	12
AM19	10

Pela observação destes valores, muito semelhantes, pode-se deduzir que a alteração na metodologia das sínteses realizadas não parece ter surtido um efeito muito significativo em termos de tamanho das partículas. As partículas obtidas por precipitação sem alteração no meio reacional (AM1) apresentam um tamanho médio muito semelhante ao reportado na literatura [53, 102, 119, 120]. As partículas obtidas através do método de refluxo apresentam um tamanho inferior comparativamente com o tamanho determinado para as partículas sintetizadas por precipitação, ainda que este tamanho não seja semelhante a alguns dos valores referidos na literatura para este método de síntese (4 nm) [69]. Este facto poderá estar relacionado com uma possível instabilidade da temperatura durante o refluxo, ou uma má homogeneidade da mistura reacional.

A determinação dos parâmetros de malha das amostras foi efetuada pelo método de Rietveld, de acordo com o procedimento descrito em 3.1.1. Na Figura 5.2 encontram-se os resultados dos refinamentos para as amostras sintetizadas. Estes resultados ilustram bem que as amostras podem corretamente ser descritas pela estrutura da espinela, tal como anteriormente referido (Tabela 3.1). Na Tabela 5.2, encontram-se resumidos os parâmetros de malha refinados para cada amostra, assim como os valores de χ^2 que é um bom indicativo da qualidade do refinamento.

Tabela 5.2. Valores de χ^2 e parâmetros de malha (a) para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtidas por diferentes métodos.

Amostra	χ^2	a / Å
AM1	0,979	8,3703(8)
AM4	0,934	8,3761(8)
AM5	1,000	8,3721(7)
AM9	0,900	8,3721(9)
AM20	1,100	8,3606(8)
AM19	1,030	8,3693(9)

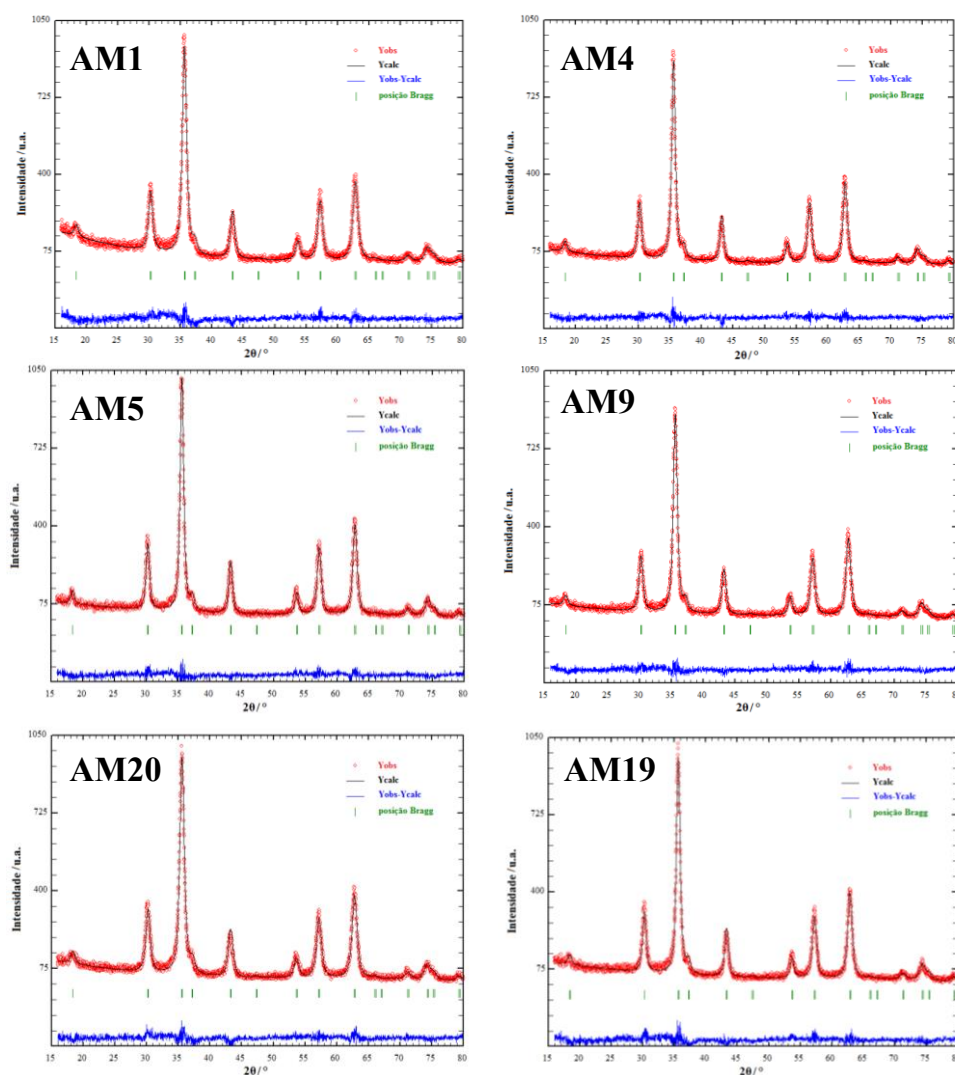


Figura 5.2. Resultados do refinamento dos difratogramas de raios-X para as amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas.

Os valores de parâmetro de malha obtidos para as amostras sintetizadas encontram-se entre dois valores descritos na literatura (fichas JCPDS 89-0691 e 25-1402) correspondentes a amostras de magnetite (8,396 Å) e maghemite (8,346 Å). Quanto maior a aproximação ao valor do parâmetro de malha da maghemite, maior é o grau de oxidação exibido pelas partículas sintetizadas. A oxidação das partículas pode dever-se a inúmeros fatores que têm lugar durante o processo de síntese como por exemplo, o pH da solução, a temperatura, os reagentes usados [121, 122]. Como estamos perante partículas de pequenas dimensões (≈ 11 nm), a elevada área superficial torna-as mais suscetíveis a processos de oxidação que possam ocorrer à sua superfície, tal como já anteriormente referido [53, 123].

Como complemento à informação obtida pela caracterização de difração de raios-X, foram realizados espectros de FTIR de modo a identificar as bandas correspondentes às ligações Fe-O características das amostras $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$. Na Figura 5.3 apresentam-se os espectros de FTIR das amostras sintetizadas.

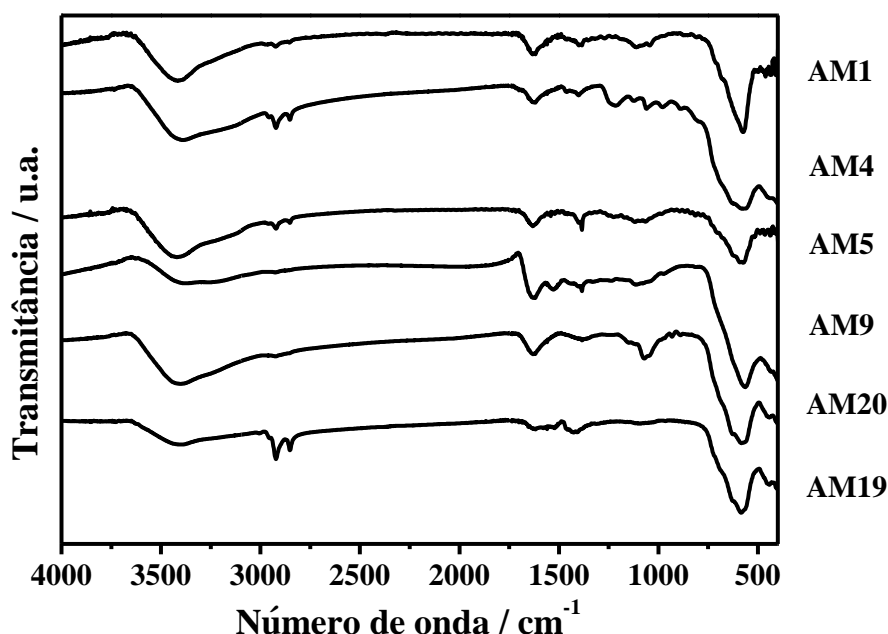


Figura 5.3. Espectros de FTIR das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtidas segundo metodologias distintas.

Como se pode observar em todos os espectros, é possível identificar bandas a cerca de 590 e 450 cm^{-1} correspondentes à ligação Fe-O das posições tetraédrica e octaédrica, respetivamente (características da estrutura da espinela) [113], bem como a banda correspondente à frequência da ligação OH referente à presença de água (humidade) (3450 cm^{-1}). Na amostra AM1, para além das bandas referidas, é possível identificar ainda a presença de dois picos entre os 1500 e os 1800 cm^{-1} originários de uma má correção feita pelo aparelho, e que também foram observados numa pastilha de KBr puro (Anexo C, Figura C1). Para as amostras AM4 e AM5, a cerca de 2920 cm^{-1} , são observados vestígios das bandas correspondentes à elongação e deformação das ligações C-H provenientes do surfactante, tal como referido por Ramimoghadam *et al.* [124]. Para a amostra AM9, bandas correspondentes às vibrações de elongação e deformação de ligações como CH_2 , CO, COO e CN, presentes nos aminoácidos que constituem a gelatina [125, 126], foram observadas no intervalo entre 2000 e os 1000 cm^{-1} [127–129]. No caso da amostra AM20, as bandas referentes às ligações dos componentes que constituem o

ágar (subunidades de galactose) são detetadas nos intervalos de 1500 a 800 cm^{-1} e 3000 a 2800 cm^{-1} [130]. Para a amostra preparada por refluxo (AM19) foram detetadas bandas extra para valores a rondar os 2800 a 2900 cm^{-1} e os 1500 a 1600 cm^{-1} que podem ser atribuídos à molécula de ácido oleico utilizado na reação: elongação simétrica e assimétrica da ligação CH_2 (2852 e 2922 cm^{-1} , respetivamente) e elongação simétrica e assimétrica da ligação COO (1639 e 1541 cm^{-1} , respetivamente) [131]. No Anexo C (Figura C2 e C3), encontram-se os espectros de FTIR da gelatina e ágar utilizados nas sínteses das amostras AM9 e AM20 respetivamente.

A avaliação da distribuição de tamanhos apresentados pelas amostras sintetizadas foi realizada através da análise de imagens TEM.

Para estimar os tamanhos médios das partículas, foram realizados gráficos de distribuição recorrendo ao programa *ImageJ*. Com o auxílio de um programa de tratamento de dados (*OriginLab*) os gráficos obtidos foram ajustados a uma curva LogNormal regida pela equação:

$$y = y_0 + \frac{A}{(\sqrt{2\pi}\sigma)} \times e^{-\ln(\frac{x}{m_0})^2/2\sigma^2} \quad (\text{Eq. 5.1})$$

onde, A é a área da curva, m_0 a mediana e σ o desvio padrão. A expressão usada para este propósito estabelece uma relação dos valores de m_0 , e σ com o tamanho médio das partículas:

$$D_{\text{TEM}} = m_0 e^{\sigma^2/2} \quad (\text{Eq. 5.2})$$

Para a amostra AM1, sendo notória uma maior dispersão de tamanhos relativamente às restantes amostras, o ajuste foi feito considerando duas funções LogNormal.

Nas Figuras 5.4 e 5.5, apresentam-se imagens TEM das amostras sintetizadas e os respetivos gráficos de distribuição de tamanhos de partícula, obtidos a partir da medição de ≈ 300 partículas. Os valores do tamanho médio das partículas, obtidos pelo ajuste das distribuições, encontram-se resumidos na Tabela 5.3, sendo de realçar o facto dos valores de D_{TEM} obtidos serem muito semelhantes aos determinados a partir dos difratogramas de XRD (D_{XRD}). Estes resultados mostram que, de um modo geral, a alteração do meio reacional não alterou a morfologia das partículas, que apresentam uma forma quase esférica e tamanhos muito semelhantes.

Tabela 5.3. D_{TEM} para amostras de $Fe_{3-x}O_4$ sintetizadas por diferentes métodos.

Amostra	m_0	σ (D)	D_{TEM} / nm	D_{XRD} / nm
AM1	9,28/17,58	0,3/0,2	9,7/17,9	11
AM4	10,72	0,18	10,9	12
AM5	10,25	0,31	11,8	12
AM9	11,08	0,16	11,2	11
AM20	11,00	0,29	11,5	12
AM19	9,34	0,41	10,2	10

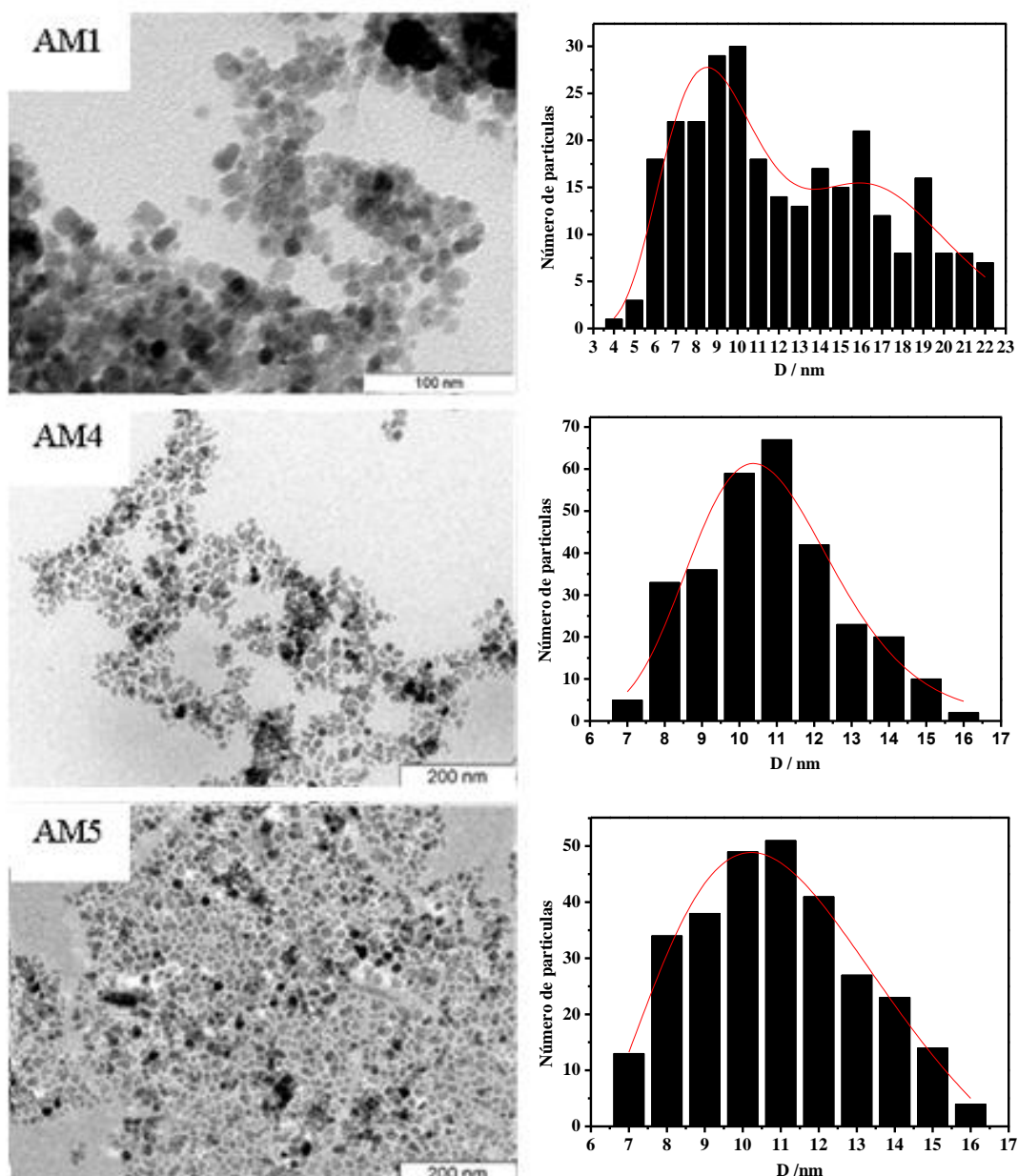


Figura 5.4. Imagens de TEM e respectivos gráficos de distribuição de nanopartículas de $Fe_{3-x}O_4$ sintetizadas por precipitação simples e na presença de surfactante (SDS).

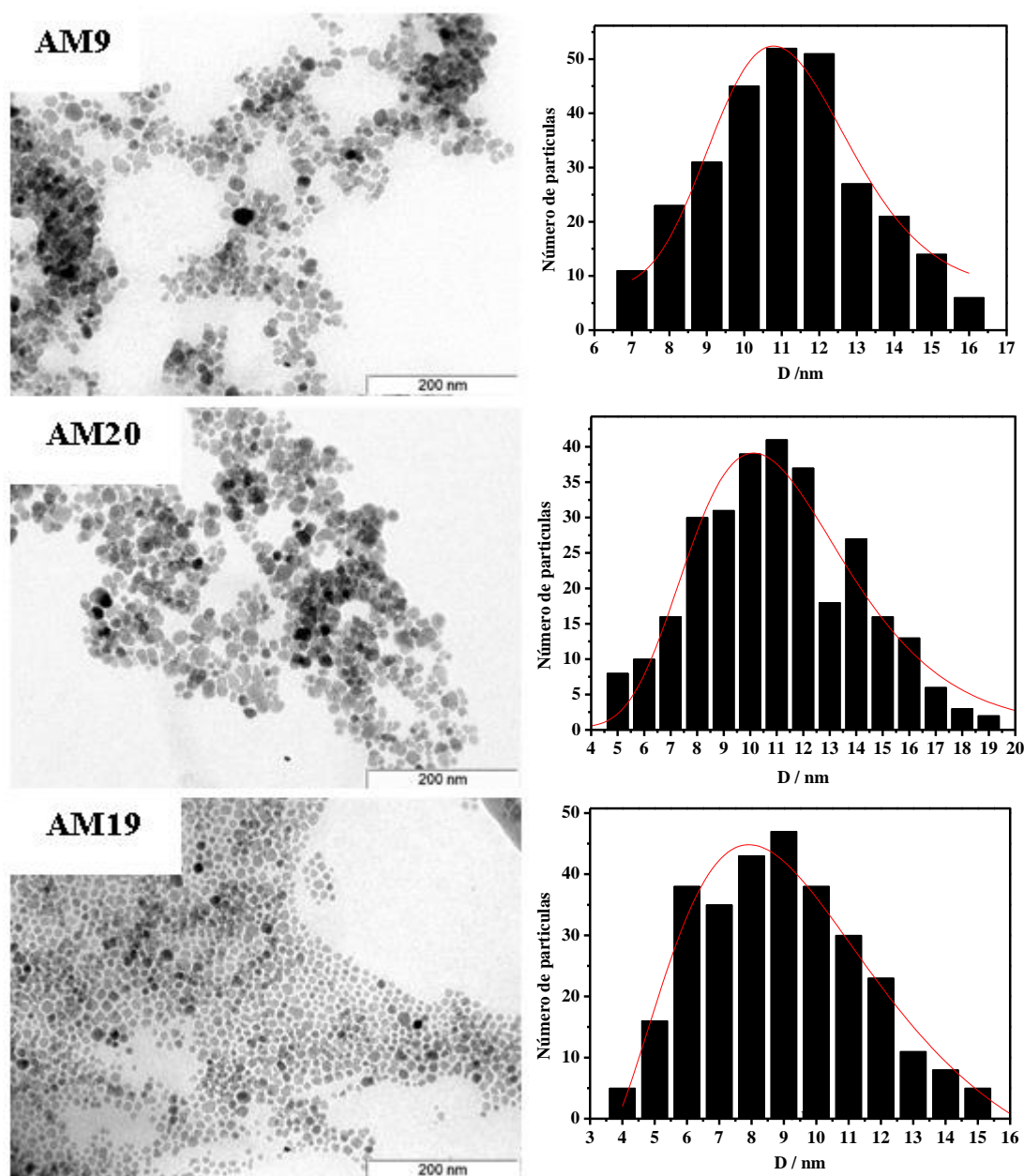


Figura 5.5. Imagens de TEM e respectivos gráficos de distribuição de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas por precipitação na presença de gelatina, ágar, e pelo método de refluxo.

Tal como referido anteriormente, para a amostra AM1, devido à maior dispersão observada, foi efetuado o cálculo considerando o somatório de duas funções LogNormal, tendo assim sido possível identificar dois grupos de partículas com tamanhos médios distintos (9,7 e 17,9 nm). Pelos valores de largura das curvas de distribuição das outras amostras (tratadas com uma distribuição), pode ainda verificar-se o papel positivo da gelatina no controlo do tamanho das nanopartículas, uma vez que estas amostras apresentam um desvio padrão semelhante ao obtido para a amostra AM4, em que foi utilizada uma maior quantidade de surfactante.

5.1.2. Caracterização magnética

Os espectros Mössbauer de ^{57}Fe referentes às amostras até aqui mencionadas e obtidos a 290 K encontram-se expostos nas Figuras 5.6 e 5.7. Nos gráficos apresentados, os pontos assinalam os dados experimentais, a linha contínua a azul, o ajuste global, e as linhas contínuas a outras cores, os diferentes subespetros usados no ajuste, associados às diferentes posições cristalográficas de ferro. Em todos os casos, os dados experimentais foram corretamente reproduzidos utilizando dois subespetros, e considerando para ambos uma distribuição de campos magnéticos hiperfinos, B_{hf} . À direita de todos os espectros encontram-se os gráficos da distribuição de probabilidade dos valores de B_{hf} resultantes do ajuste de cada subespetro. Para facilitar a identificação, a curva de distribuição tem a mesma cor do subespetro correspondente. Na Tabela 5.4 estão apresentados os valores médios do campo magnético hiperfino, o desvio isomérico e o desvio quadrupolar ($\langle B_{\text{hf}} \rangle$, δ , ϵ) associados a cada subespetro. Para facilitar a discussão, apresentam-se na Figura 5.8 e na Tabela 5.5 os resultados de uma amostra de magnetite comercial (*B.H.D. Laboratory Chemicals Division*), que se verificou estar já bastante oxidada, certamente por ser um produto que existe no laboratório há vários anos.

Começando pela magnetite comercial ($D_{\text{XRD}} \approx 60 \text{ nm}$) pode ver-se na Figura 5.8 o aspeto característico do espectro Mössbauer deste composto: as 6 riscas de cada um dos subespetros associados aos ferros nas posições A e B são bastante diferentes e o seu somatório dá lugar a 3 riscas desdobradas do lado esquerdo e a 3 riscas praticamente coincidentes e, por isso, mais intensas do lado direito. As posições A e B correspondem, respetivamente, às posições tetraédricas, apenas ocupadas por iões Fe^{3+} (subespetro azul) e às posições octaédricas, que, no composto estequiométrico, são ocupadas por iguais quantidades de iões Fe^{2+} e Fe^{3+} , (subespetro vermelho). Diferentemente do que é esperado no composto estequiométrico onde 1/3 dos iões Fe ocupa a posição A e 2/3 a posição B, a Figura 5.8 e a Tabela 5.5 mostram que o subespetro azul (sítio A) tem uma área relativa superior à do subespetro vermelho (sítio B). Tal indicia imediatamente certo grau de oxidação da amostra, isto é, parte dos iões Fe^{2+} foram oxidados passando a iões Fe^{3+} . Também o desvio isomérico do sítio A, aumentando do valor esperado para Fe^{3+} em sítios tetraédricos, 0.27 mm s^{-1} , para um valor um pouco superior, $0.30(1) \text{ mm s}^{-1}$, indicia a contribuição de iões de Fe^{3+} provenientes de sítios octaédricos. Um valor de desvio isomérico típico de Fe^{3+} em lugar octaédrico encontra-se geralmente no intervalo 0.32 a 0.37 mm s^{-1} [132].

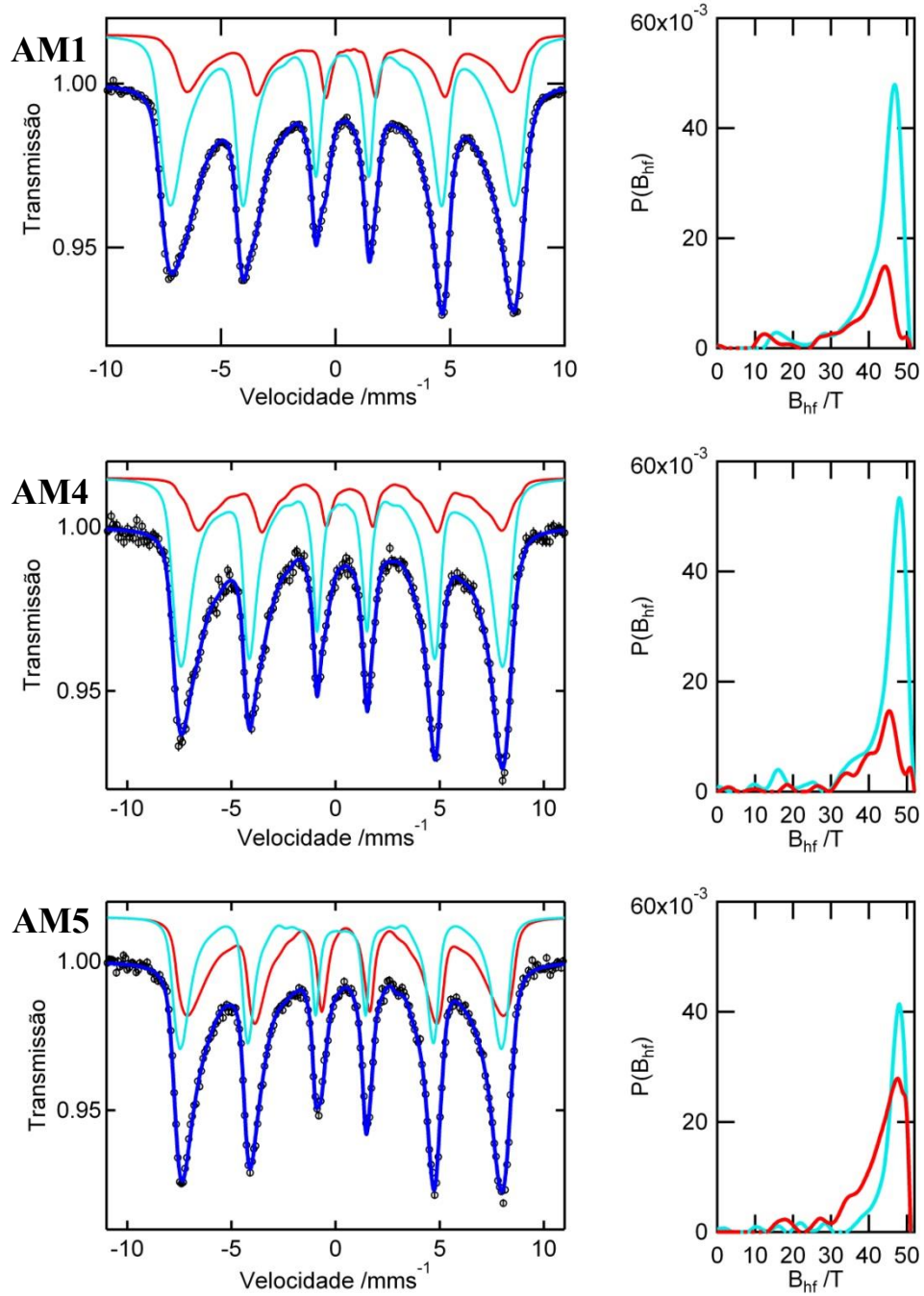


Figura 5.6. Espectros Mössbauer de ⁵⁷Fe obtidos a 290 K, referentes às amostras AM1, AM4 e AM5.

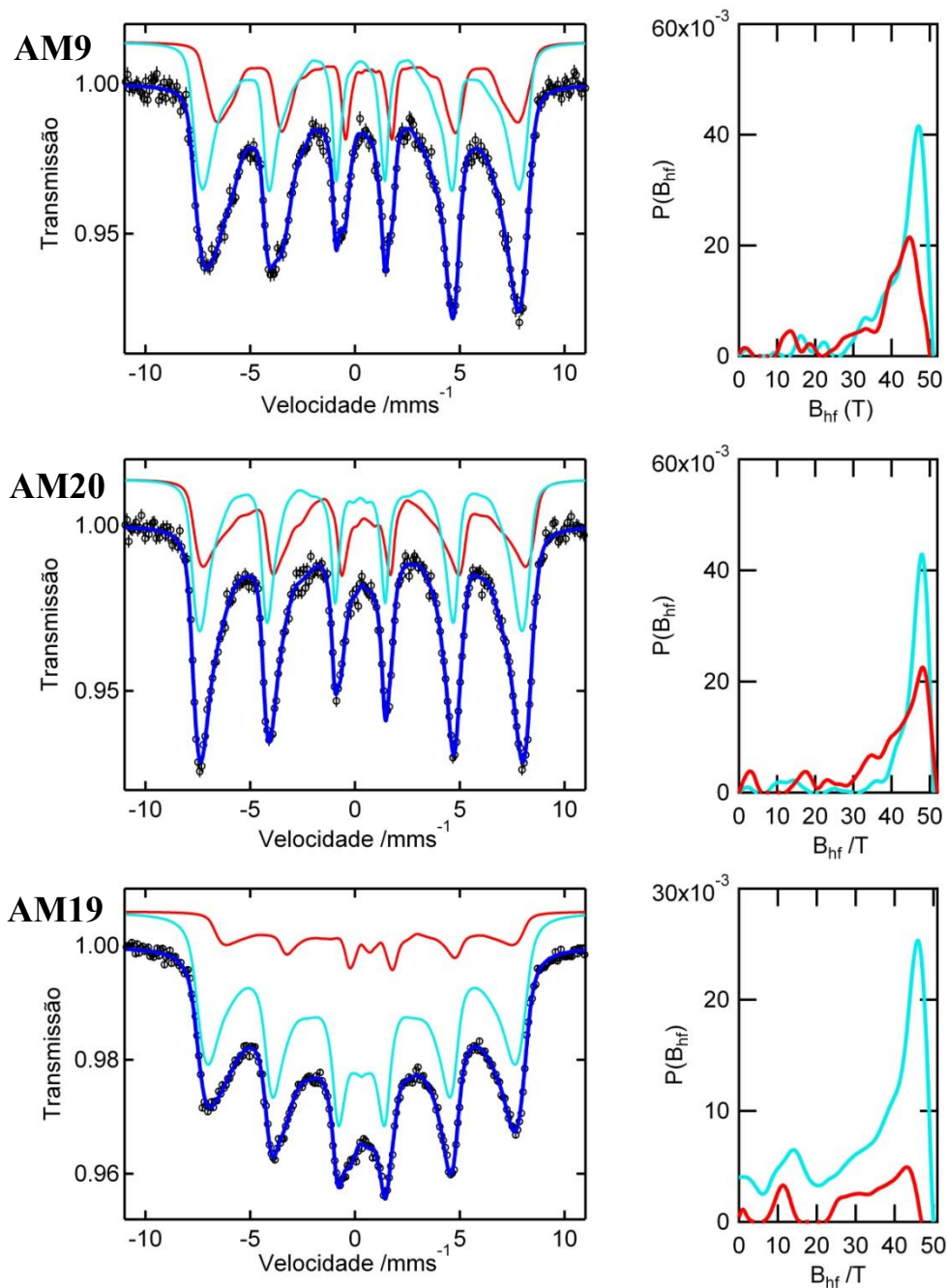


Figura 5.7. Espectros Mössbauer de ^{57}Fe obtidos a 290 K, referentes às amostras AM9, AM20 e AM19.

Tabela 5.4. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste aos espectros Mössbauer das amostras apresentadas nas Figuras 5.6 e 5.7. $\langle B_{hf}(\sigma) \rangle$: valor médio do campo magnético hiperfino (e desvio padrão da distribuição Gaussiana associada); δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar; Γ – largura a meia altura de cada sub-subespectro (forma Lorentziana) da distribuição Gaussiana; I: área relativa do subespectro.

Amostra	Sítio	$\langle B_{hf}(\sigma) \rangle$ /T	δ /mm s ⁻¹	ϵ /mm s ⁻¹	Γ /mm s ⁻¹	I /%
AM1	1	42(8)	0,30(1)	-0,01(1)	0,40	71,0
	2	38(10)	0,64(1)	-0,05(1)	0,35	29,0
AM4	1	43(9)	0,31(1)	-0,01(1)	0,38	73,9
	2	40(9)	0,69(2)	0,02(3)	0,41	26,1
AM5	1	44(8)	0,25(1)	0,01(1)	0,34	44,8
	2	42(7)	0,48(1)	-0,02(1)	0,40	55,2
AM9	1	42(8)	0,27(1)	0,01(1)	0,32	59,4
	2	37(11)	0,63(2)	-0,05(3)	0,32	40,6
AM20	1	43(10)	0,27(1)	-0,03(2)	0,35	49,6
	2	39(12)	0,49(2)	-0,08(3)	0,35	50,4
AM19	1	33(14)	0,31(1)	0,01(1)	0,55	81,4
	2	31(13)	0,73(2)	-0,09(3)	0,45	18,6

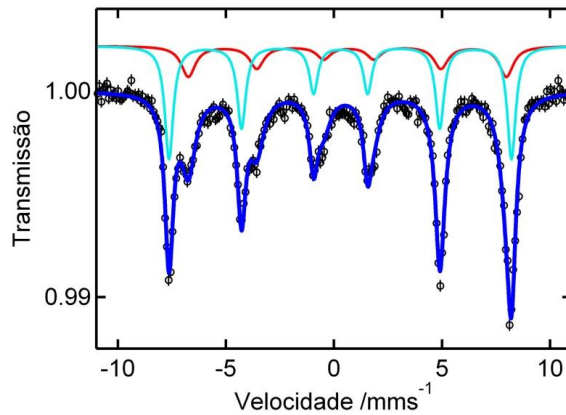


Figura 5.8. Espectro Mössbauer de ⁵⁷Fe obtido a 290 K, referente a uma amostra de magnetite comercial.

Tabela 5.5. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste ao espectro Mössbauer da magnetite comercial (Figura 5.5). B_{hf} : campo magnético hiperfino; δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar; Γ – largura a meia altura da linha Mössbauer; I: área relativa do subespetros.

Sítio	B_{hf} /T	δ /mm s ⁻¹	ϵ /mm s ⁻¹	Γ /mm s ⁻¹	I /%
A	49,1(1)	0,30(1)	-0,02(2)	0,48(1)	57,3
B	45,7(1)	0,66(1)	-0,07(2)	0,79(4)	42,7

Analisando agora os espectros Mössbauer das amostras apresentadas nas Figuras 5.6 e 5.7, é evidente que nenhuma delas apresenta uma separação nítida entre os sextetos associados às posições A e B dos íons de ferro. Isto poderia, por si só, sugerir um elevado

grau de oxidação do Fe^{2+} . Contudo, um aspeto muito importante é que, contrariamente ao ajuste realizado no espectro de magnetite comercial, onde se utilizaram apenas dois subespetros discretos (com valores únicos de B_{hf} , δ e ϵ), em todos os espectros das 6 amostras apresentadas o ajuste correto só foi conseguido recorrendo a duas distribuições Gaussianas de campos magnéticos hiperfinos, definindo cada uma um conjunto quase contínuo de muitos espectros todos com o mesmo δ e ϵ mas um B_{hf} ligeiramente diferente. Esta necessidade de introduzir funções distribuídas é justificada pelo tamanho nanométrico das cristalites e pela distribuição de tamanhos das nanopartículas sintetizadas.

Estes resultados mostram claramente, que, tal como esperado para nanopartículas de tipo magnetite, a estequiometria correta das amostras é $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, estando o valor x diretamente relacionado com o grau de oxidação da amostra [53].

Pode ainda observar-se que os valores médios do campo magnético hiperfino da amostra AM19 são claramente mais pequenos do que os observados para as restantes amostras. Este facto é explicado pelo menor valor de tamanho médio das partículas desta amostra, que é também aquela que contém um maior número de partículas mais pequenas, tal como foi observado por TEM (Tabela 5.3).

A partir das percentagens de cada sítio (Tabela 5.4) e da equação 5.3 [132], determinou-se o valor de x para cada amostra. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 5.6.

$$x = \frac{1,8 - \frac{I(\text{Fe}^{2+,5+})}{I(\text{Fe}^{3+})}}{5,4 + 5 \frac{I(\text{Fe}^{2+,5+})}{I(\text{Fe}^{3+})}} \quad (\text{Eq. 5.3})$$

Os resultados de x obtidos para as amostras AM5 e AM20 não podem ser comparados pois, como referido anteriormente, o sítio 2 destes espectros tem um valor de desvio isomérico já muito diferente do valor esperado, influenciando assim, o valor de x calculado (valor obtido certamente inferior ao real).

Tabela 5.6. Quantificação do grau de oxidação apresentado pelas amostras $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas em diferentes condições.

Amostra	Sítio	I /%	x
Magnetite comercial	A	57,3	0,12
	B	42,7	
AM1	1	71,0	0,19
	2	29,0	
AM4	1	73,9	0,20
	2	26,1	
AM5	1	44,8	0,05
	2	55,2	
AM9	1	59,4	0,13
	2	40,6	
AM20	1	49,6	0,07
	2	50,4	
AM19	1	81,4	0,24
	2	18,6	

Assim, e excluindo estas amostras, pode-se concluir que a amostra sintetizada em meio de gelatina (AM9) é aquela que apresenta um menor grau de oxidação, valor este comparável à magnetite comercial analisada.

Nas Figuras 5.9 e 5.10 apresentam-se as curvas resultantes do estudo da magnetização em função da temperatura (ZFC e FC) e do campo magnético para as amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas.

De uma forma geral, pode-se afirmar que o comportamento magnético das diferentes amostras é muito similar, assim como os valores de magnetização de saturação e coercividade, o que se justifica pela similaridade do tamanho médio das partículas. Todas as amostras exibem um comportamento do tipo ferrimagnético, tal como esperado para amostras de tipo magnetite. Tal como anteriormente verificado para nanopartículas de tipo magnetite ($\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$) de diferentes tamanhos [53], a análise das curvas (Figura 5.9 e 5.10) mostra que é possível identificar dois máximos na curva ZFC, um próximo de 200 K, que associamos à temperatura de bloqueio das nanopartículas mais pequenas (essencialmente magnetite oxidada), e um segundo, acima de 350 K, associado à temperatura de bloqueio de magnetite estequiométrica.

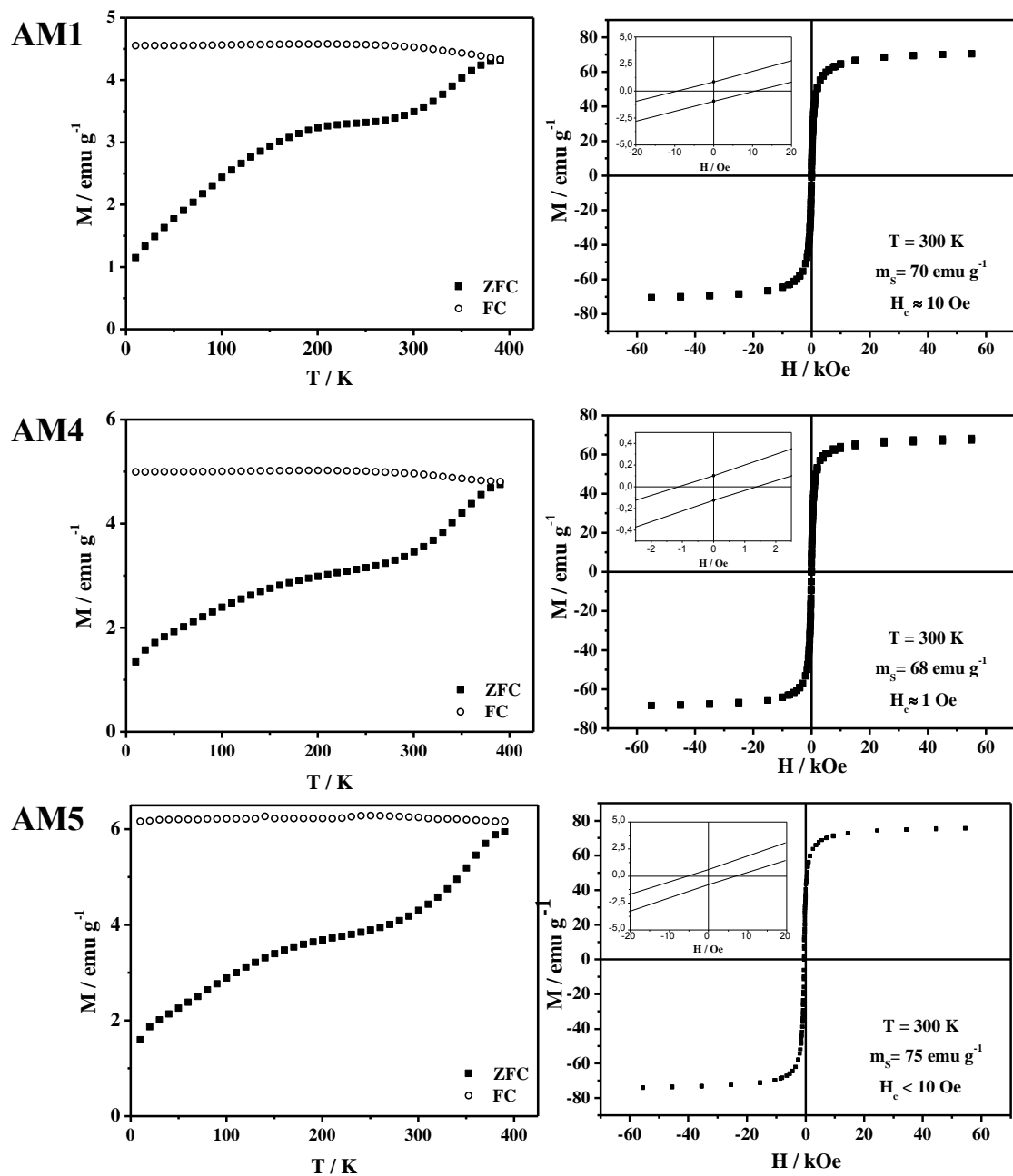


Figura 5.9. Curvas de magnetização em função da temperatura (300 K) medidas a 50 Oe e curvas de magnetização em função do campo aplicado das amostras AM1, AM4 e AM5.

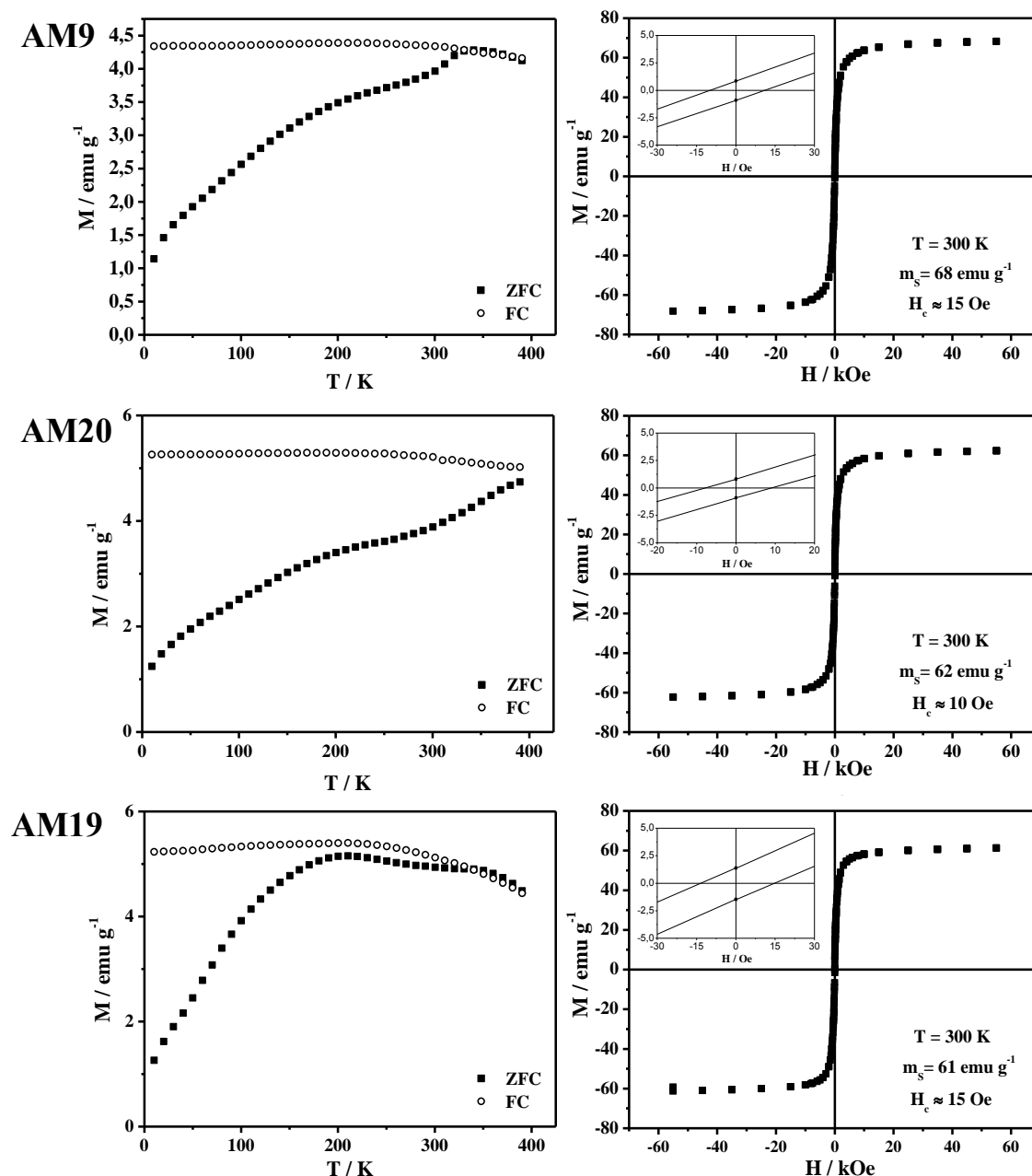


Figura 5.10. Curvas de magnetização em função da temperatura (300 K) medidas a 50 Oe, e curvas de magnetização em função do campo aplicado das amostras AM9, AM20 e AM19

O máximo próximo de 200 K torna-se mais importante para as amostras AM1 e AM19, e muito especialmente no caso da amostra AM19. Estes resultados estão de acordo com o estudo de distribuição do tamanho das partículas (Tabela 5.3), uma vez que a amostra AM19 é aquela que apresenta tamanho de partículas mais pequenas (10 nm), e a amostra AM1, que apresenta uma distribuição larga de tamanho de partículas, contém uma fração significativa de partículas com tamanho abaixo de 9 nm.

A magnetização de saturação corresponde à soma das contribuições de todas as partículas, sendo mais baixa para partículas mais pequenas, que se devem encontrar no estado superparamagnético a 300 K. Apesar de a amostra AM1 ter também um número elevado de partículas mais pequenas, a coexistência com uma distribuição de partículas maiores do que em todas as outras amostras implica que a magnetização de saturação a 300 K seja a maior das amostras estudadas. Por outro lado, o baixo valor de magnetização de saturação observado para a amostra AM20 (que apresenta um valor médio de tamanho de partículas de 12 nm) pode ser explicado pelo facto de esta amostra apresentar um número significativo de partículas com tamanhos entre 5 e 7 nm.

5.1.3. Medidas de hipertermia magnética

O estudo de avaliação da capacidade de libertação de energia pelas partículas, quando sujeita a um campo magnético alternado foi efetuado para todas as amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ anteriormente referidas. Tal como explicado anteriormente os resultados destas medidas originam um gráfico temperatura vs tempo que fornece os parâmetros necessários para a determinação da taxa de absorção específica (SAR) (Eq. 1.4). Neste trabalho e de forma a determinar este valor com maior rigor, a determinação dos valores de SAR foram determinados através da seguinte equação:

$$\text{SAR} = (m_{\text{vidro}} \times c_{\text{vidro}} + m_{\text{água}} \times c_{\text{água}}) \times \frac{\Delta T}{\Delta t} \times \frac{1}{m_{\text{NPMs}}} \quad (\text{Eq. 5.4})$$

onde ΔT é a variação da temperatura, Δt é a variação do tempo (em s), m_{NPMs} é a massa da amostra (em g), m_{vidro} e $m_{\text{água}}$ são a massa do vidro (para a quantidade em contacto com a amostra $\approx 80\%$ da massa do frasco) e da água (em g), c_{vidro} e $c_{\text{água}}$ são a capacidade calorífica do vidro ($0,2 \text{ cal g}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$) e da água ($1,0 \text{ cal g}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$), respetivamente. A soma do produto de m_{vidro} e c_{vidro} com o produto de $m_{\text{água}}$ e $c_{\text{água}}$ corresponde ao valor da capacidade calorífica específica, c (em $\text{cal }^{\circ}\text{C}$). No caso das medidas efetuadas para as amostras dispersas numa solução de citrato de sódio, utilizou-se o mesmo valor de c uma vez que se considerou que o efeito do citrato de sódio é insignificante visto ter-se utilizado uma quantidade muito baixa (5%).

Na Figura 5.11 encontram-se dois ensaios realizados para as amostras sintetizadas em meios dispersantes distintos: a) água destilada; b) solução de citrato de sódio.

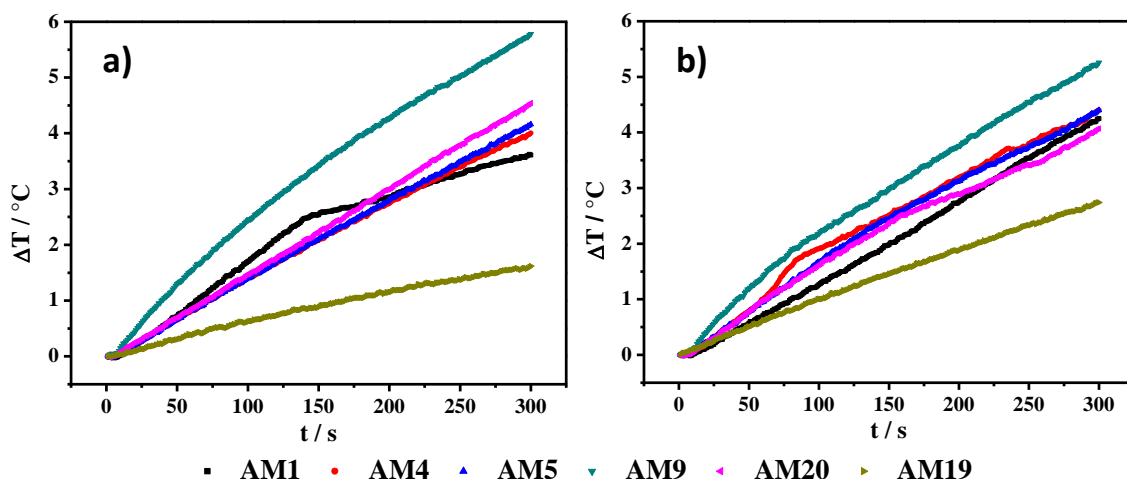


Figura 5.11. Variação de temperatura em função de tempo para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas: a) em água destilada e b) numa solução de citrato de sódio, quando sujeitas a um campo magnético alternado.

De um modo geral, os valores experimentais exibem um aumento progressivo da temperatura ao longo do período estipulado (300 s). Neste aumento é possível detetar uma ligeira curvatura, que pode ser justificada por possíveis perdas de energia calorífica para o exterior. Para além desta ligeira curvatura, observaram-se ainda comportamentos anómalos por parte de algumas amostras, como é o caso da amostra AM1 dispersa em água destilada, e da amostra AM4 dispersa numa solução de citrato de sódio, para as quais uma variação brusca do declive ocorre entre os 50 e os 200 s, provocada provavelmente por variações da temperatura do meio ambiente (ex. calor gerado pela bobine) ou efeitos que ocorram na amostra (ex. aglomeração das partículas, tal como é observado na Figura 5.12).



Figura 5.12. Efeito da aglomeração das partículas em amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas em condições diferentes, após medição de hipertermia magnética.

De forma a poder comparar corretamente os resultados obtidos com as diferentes amostras, os valores de SAR foram calculados através da equação 5.4 tendo em conta a variação da temperatura nos segundos iniciais (entre 10 e 70 s, dependendo da amostra),

onde o efeito de outros efeitos exteriores é desprezável. Os valores obtidos encontram-se resumidos na Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Valores da taxa de absorção específica das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas, com base nos resultados obtidos num intervalo entre 10 e 70 s (dependendo da amostra).

Amostra	SAR / W g ⁻¹	
	Água Destilada	Citrato de Sódio (sol.)
AM1	66,34	74,41
AM4	77,34	92,21
AM5	73,62	84,41
AM9	163,32	183,27
AM20	83,73	94,57
AM19	37,28	53,03

A comparação de resultados obtidos em água e em solução de citrato de sódio mostram um comportamento muito semelhante, com valores superiores para os ensaios realizados em solução de citrato de sódio. Como já observado no ponto 4.1, uma boa dispersão das partículas no meio permite uma maior libertação de energia calorífica que é reproduzida em valores de SAR superiores, como é o caso dos valores apresentados pelas partículas dispersas na solução de citrato de sódio. Para as partículas obtidas por precipitação com adição de surfactante, gelatina ou ágar, os valores de SAR são superiores ao valor apresentado pelas partículas obtidas por precipitação simples (AM1). É de realçar o facto de a amostra sintetizada em gelatina (AM9) apresentar valores muito superiores relativamente aos valores das restantes amostras. Este facto poderá estar associado a um possível revestimento das partículas por grupos funcionais da gelatina, que, de alguma forma, melhorem a sua dispersão, quer em água quer em citrato de sódio, proporcionando-lhes uma maior eficácia no que diz respeito à libertação de energia quando sujeitas a um campo magnético alternado. Por outro lado, as partículas obtidas através do método de refluxo (AM19) apresentam um valor de SAR consideravelmente baixo, o que poderá dever-se ao facto de estas apresentarem um tamanho médio inferior (≈ 9 nm).

De forma a verificar o efeito do tamanho médio das partículas sobre o valor de SAR, foram feitas medições em solução de citrato de sódio para amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ preparadas no grupo e com tamanhos médios de partículas de: 20, 30 e 40 nm. Na Figura 5.13 encontram-se as respostas obtidas para cada amostra (juntamente com a amostra AM1, $D = 10$ nm), quando sujeitas a um campo magnético alternado idêntico ao utilizado anteriormente.

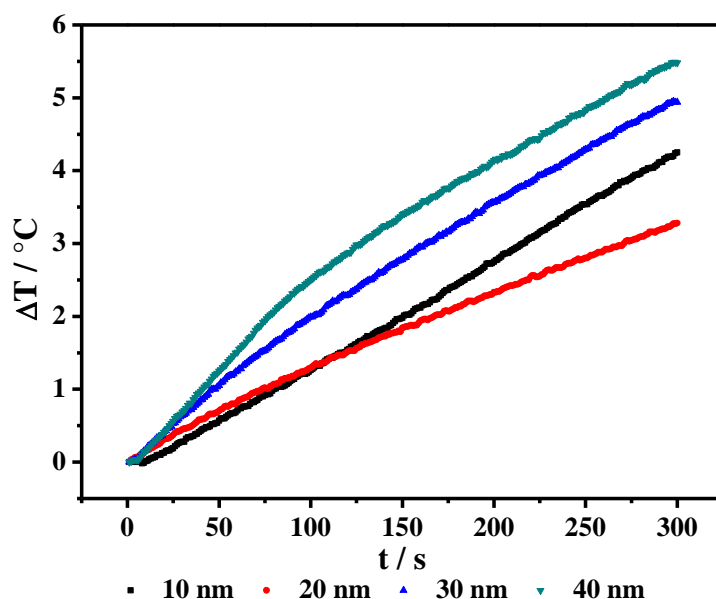


Figura 5.13. Variação da temperatura em função do tempo para nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ com diferentes tamanhos médios, quando sujeitas a um campo magnético alternado.

Como já observado para as outras amostras, também neste caso os resultados obtidos não correspondem a um crescimento homogêneo da temperatura em todo o intervalo de tempo, sendo novamente observada uma curvatura derivada provavelmente de perdas para o exterior. Para completar a análise destas amostras medidas foram calculados os valores de SAR (usando também os resultados obtidos entre 10 e 70 s, dependendo da amostra) que se encontram resumidos na Tabela 5.8.

Tabela 5.8. Valores de SAR para nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ com diferentes tamanhos médios.

$\langle D \rangle$ / nm	SAR / W g^{-1}
11*	74,41
20	93,52
30	132,96
40	145,89

* Amostra AM1

Estes resultados indicam que para este tipo de amostras ($\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$) existe uma clara relação entre o tamanho das partículas e o valor da taxa de absorção específica, o que vai de encontro aos resultados apresentados na literatura [26, 29]. Assim, é plausível considerar que partículas de tamanho inferior a 10 nm, como é o caso da amostra AM19, terão valores de SAR igualmente inferiores.

A comparação dos valores de SAR obtidos com outros valores publicados é difícil, uma vez que, como se verificou neste trabalho, as condições de medidas influenciam fortemente os resultados, e nem sempre os autores especificam em pormenor as condições de medida. Por outro lado, fatores como: o campo magnético aplicado (bobine usada, frequência e intensidade de corrente); as propriedades magnéticas das NPs (por ex, a magnetização de saturação); as propriedades físicas das NPs (em particular o seu tamanho e dispersão) entre outros fatores [29–31, 133–135], também influenciam os valores determinados.

Contudo na Tabela 5.9 encontram-se resumidos alguns dos resultados publicados para amostras de magnetite sintetizadas através de diferentes métodos, bem como as condições experimentais de medida e respetivos valores de SAR. Neste resumo, selecionaram-se as amostras mais semelhantes às que aqui foram estudadas, tendo em especial atenção o tamanho das nanopartículas e os valores de campo magnético alternado.

Quando comparados com os valores obtidos para as amostras estudadas neste trabalho, pode-se concluir que os resultados obtidos se encontram próximos dos reportados, podendo, em alguns casos, ser considerados melhores. Considerando as semelhanças entre os tamanhos das partículas reportadas por Jadhav *et al* [81] e as presentes neste trabalho e tendo em conta que estas amostras foram medidas usando um campo magnético inferior, pode-se concluir que os valores de SAR obtidos neste trabalho são consideravelmente superiores. No entanto, nestas comparações também não pode ser negligenciado outro fator importante, a funcionalização das nanopartículas, que geralmente tem como efeito uma ligeira diminuição do valor de SAR. Relativamente ao valor de SAR, determinado para a amostra de magnetite simples (AM1), este foi semelhante aos valores encontrados na literatura para o mesmo tipo de amostra com um tamanho superior (20 nm) [136, 137], apesar da dispersão de tamanhos verificada na amostra AM1 e da predominância de partículas com tamanhos que rondam os 10 nm (Tabela 5.3).

Tabela 5.9. Condições experimentais de medida de hipertermia magnética e valores de SAR para nanopartículas de magnetite sintetizadas por diferentes métodos e com diferentes tamanhos.

Revestimento	Tamanho médio / nm	Condições experimentais de medida	SAR / W g ⁻¹	[Ref.]
*	20	H = 335,2 Oe $f = 265$ kHz	≈ 80	[137]
quitosano	10	disperso em água destilada	118,85	
*	20	H = 335,2 Oe	77,4	[136]
acrypol	14	disperso em água destilada	95,8	
ácido cítrico	7	H = 40,1 kA / m	203	[27]
	8	$f = 265$ kHz	28,78	
	8	disperso em solução aquosa	93,6	
	8	de ácido cítrico	104,2	
*	10	H = 335 Oe	34,6	[81]
ácido oleico	10	I = 400 A	40,8	
	10	$f = 265$ kHz	45,0	
	10	disperso em solução de carbonato de sódio	39,4	
ácido cítrico	6	H = 60 kA / m $f = 293$ kHz disperso em água destilada	14	[138]
	6		66	
	9		27	
	9		42	
	9		50	
	9		68	
*	20	H = 335 Oe	38,4	[139]
polietileno glicol	10	$f = 265$ kHz	28,3	
ácido oleico	5	disperso em água destilada	33,5	

*sem revestimento

5.2. Nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ suportadas em MCM-41

5.2.1. Caracterização estrutural e morfológica

De modo a avaliar os resultados obtidos nos ensaios exploratórios de impregnação de nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na estrutura do MCM-41, foi efetuada uma caracterização simples das amostras, cujos resultados permitirão definir outras sínteses a efetuar futuramente.

Para as amostras sintetizadas na presença de MCM-41 observou-se que estas apresentam um volume superior ao exibido pela amostra de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtida pelo método de precipitação simples, o que, só por si, mostra bem a presença de MCM-41 nas amostras obtidas nas duas etapas. Nestas imagens também é claramente visível o tom mais claro das amostras AMCM1 e AMCM2, (Figura 5.14).

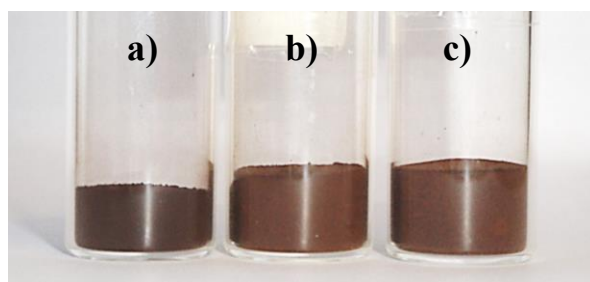


Figura 5.14. Comparação entre amostras distintas com a mesma massa: a) $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ simples, b) AMCM1 e c) AMCM2.

A presença de MCM-41 nas várias amostras foi confirmada pela presença das bandas características do MCM-41 nos espetros FTIR destas amostras, apresentados na Figura 5.15.

Através dos dados anteriormente publicados [114, 140] e comparando com o espetro de FTIR do MCM-41 realizado é possível atribuir algumas bandas (embora menos bem definidas) aos modos de vibração das ligações Si-O ($\approx 1240, 1080, 800 \text{ cm}^{-1}$). As bandas correspondentes à ligação Fe-O das posições tetraédrica e octaédrica (a cerca de 590 e 450 cm^{-1}) que correspondem às nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ podem igualmente ser identificadas.

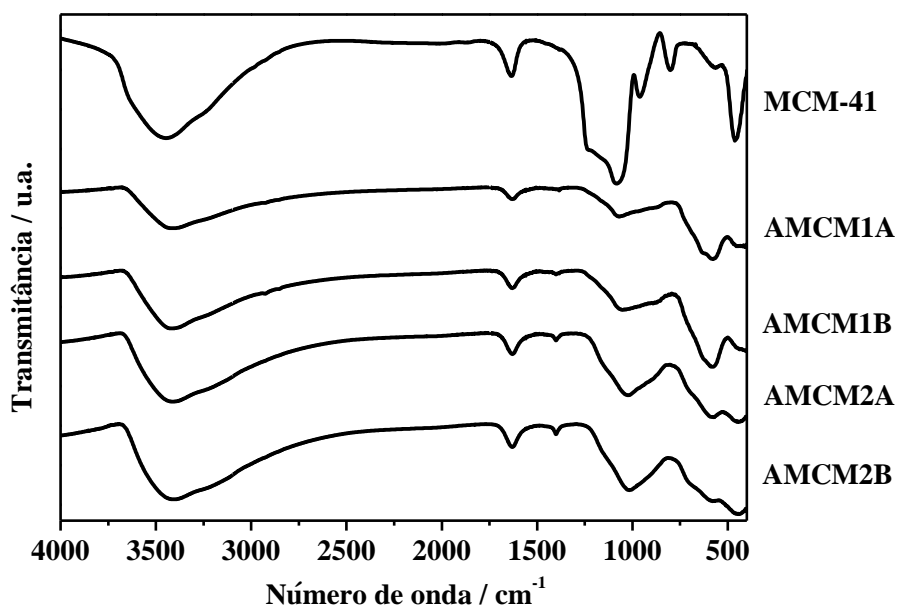


Figura 5.15. Espectros de FTIR das amostras obtidas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.

Embora os espectros de FTIR não permitam uma análise quantitativa, é evidente que as bandas características do MCM-41 são mais visíveis nas amostras AMCM2, o que se justifica por estas serem as amostras sintetizadas com maior quantidade de MCM-41. Contrariamente, a menor quantidade de MCM-41 utilizada na síntese das amostras AMCM1 permite uma visualização mais nítida das bandas características do $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$.

Os difratogramas de raios-X de pós destas amostras, Figura 5.16, foram realizados para dois intervalos de ângulo distintos de modo a possibilitar a identificação da estrutura referente às nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ e ao MCM-41. A figura revela que, para todas as amostras, foram detetados os planos cristalográficos característicos da estrutura da magnetite (ficha: JCPDS 89-0691), não tendo sido observado picos extra. Para além disso, pela comparação dos difratogramas, é visível a menor definição dos picos de difração das amostras preparadas na presença de 0,4 g de MCM41 (AMCM2) relativamente às sintetizadas na presença de 0,2 g (AMCM1), que é indicativo de uma menor cristalinidade e/ou menor tamanho de partículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ no caso das sínteses AMCM2 (com 0,4 g de MCM-41).

A análise da Figura 5.16 (entre 1,5 e 10 °), onde também se incluiu o difratograma da amostra de MCM-41 previamente sintetizada, mostra que a estrutura hexagonal do MCM-41, bem definida na amostra de partida, parece ter sido destruída durante a síntese das amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$. Este resultado não era o esperado, uma vez que a precipitação

de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ foi feita em meio básico, à temperatura ambiente, condições em que se esperava que a estrutura do MCM-41 fosse estável. No caso da amostra de MCM-41 previamente sintetizada, é possível visualizar os picos de difração característicos da sua estrutura hexagonal. Utilizando o pico mais intenso (plano 100) e a equação que permite determinar o parâmetro de malha para uma estrutura hexagonal $a = 2d_{100}/\sqrt{3}$ [100], obteve-se um valor de parâmetro de malha de $a \approx 41 \text{ \AA}$, concordante com o valor esperado [94, 103].

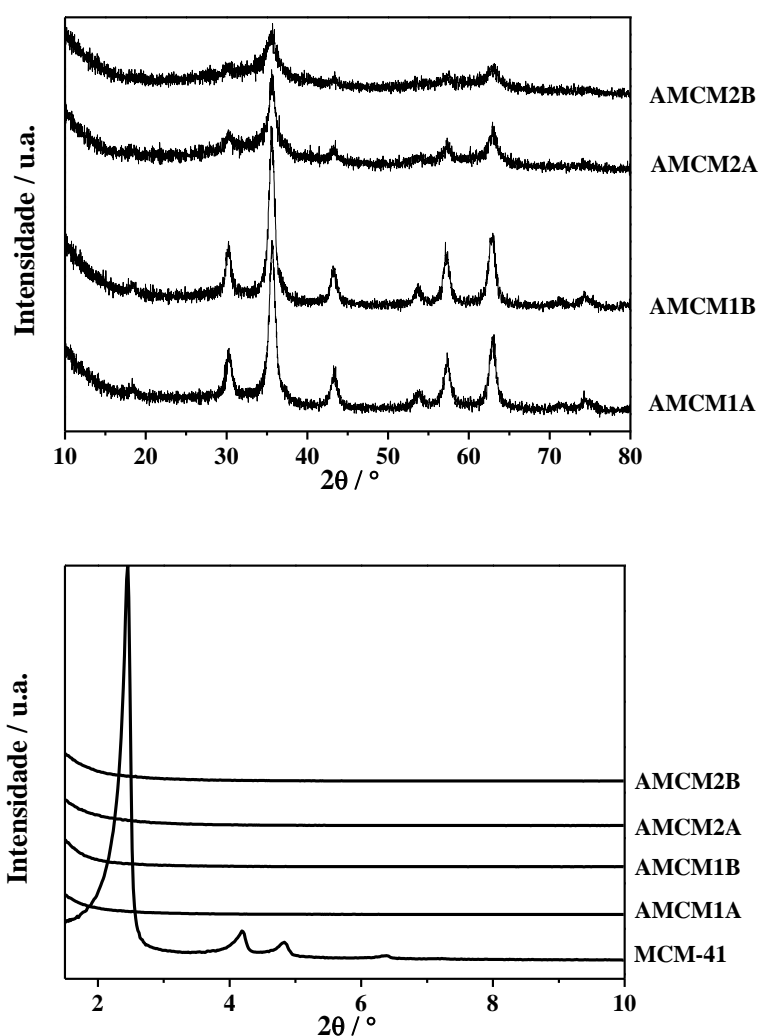


Figura 5.16. Difratomogramas de raios-X de pós das amostras obtidas por precipitação de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.

Na Tabela 5.10 encontram-se os valores de tamanhos médios das partículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ destas amostras, determinados a partir da equação de Scherrer (Eq. 3.2). Como é possível constatar, a presença do MCM-41 no meio reacional influenciou o tamanho das nanopartículas, que agora apresentam tamanhos inferiores aos observados para as

amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ anteriormente apresentadas e obtidas por precipitação (Tabela 5.3). Esta observação é especialmente relevante no caso das amostras sintetizadas na presença de maior quantidade de MCM-41. No caso das amostras de AMCM2 (A e B), onde se utilizou maior quantidade de MCM-41, o tamanho médio das partículas é diferente para cada lote, sendo significativamente menor para a amostra AMCM2B, o que pode estar relacionado com o facto de esta amostra apresentar uma maior quantidade de MCM-41. Assim, estes resultados indicam que a quantidade de MCM-41 influencia o tamanho das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ obtidas. Por outro lado, o facto de as partículas serem mais pequenas no caso da amostra AMCM2B relativamente ao lote A, poderá significar que nesta amostra, as nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ estão inseridas no interior do material mesoporoso.

Tabela 5.10. Valores de tamanho médio das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ (D_{XRD}) sintetizadas por precipitação na presença de MCM-41.

Amostra	D_{XRD} / nm
AMCM1A	9
AMCM1B	10
AMCM2A	9
AMCM2B	6

Na Figura 5.17 encontram-se algumas imagens TEM representativas das amostras MCM-41, AMCM1A e AMCM2 (A e B). Devido às semelhanças exibidas pelas duas amostras de AMCM1, e a menor quantidade de MCM-41 utilizada nesta síntese, a amostra AMCM1B não foi estudada por esta técnica.

Embora mal definidos, muito provavelmente por haver grande sobreposição de partículas, a amostra de MCM-41 apresenta uma imagem típica para este tipo de material [100], onde se podem identificar canais da sua estrutura hexagonal. No caso da amostra AMCM1, em todas as observações efetuadas, não foi possível visualizar partículas que pudessem ser identificadas como MCM-41. É de salientar que esta amostra foi feita utilizando 0,2 g de MCM-41 e que a estrutura da matriz não foi observada por DRX. Assim, os aglomerados de partículas observados deverão corresponder essencialmente a $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$.

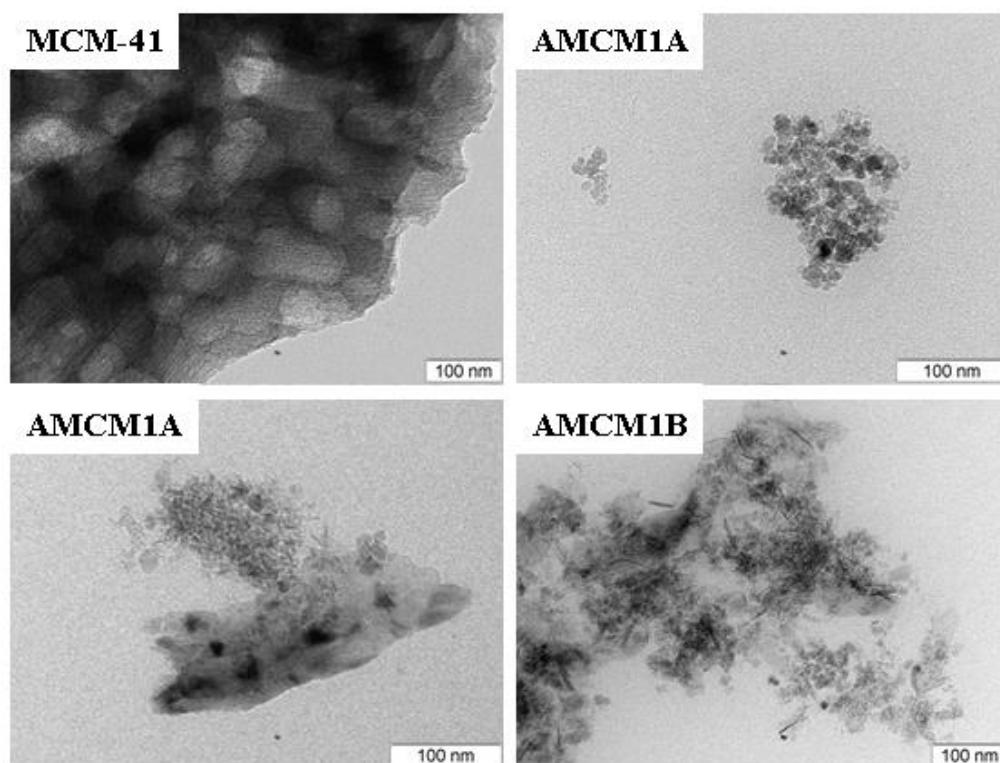


Figura 5.17. Imagens TEM das amostras resultantes da síntese de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na presença de MCM-41.

As imagens obtidas para as amostras AMCM2 (A e B) revelam claramente um aglomerado de partículas com morfologia típica de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, e outros aglomerados que poderão corresponder a bocados de MCM-41, com um aspeto muito diferente do obtido para a amostra original (MCM-41) e que, tal como deduzido por DRX, evidencia a destruição da ordem tridimensional da sua estrutura.

Para além da clara diminuição do tamanho médio das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, os resultados globais obtidos para estas amostras não são conclusivos, pelo que, será necessário efetuar outros ensaios, nomeadamente usando outras quantidades de MCM-41 e outras condições de síntese.

5.2.2. Caracterização magnética

Na Figura 5.18 apresentam-se os espectros de Mössbauer obtidos a 290 K das amostras AMCM1 (A e B) e AMCM2 (A e B), respectivamente, e os parâmetros hiperfinos obtidos no ajuste são apresentados na Tabela 5.11. À exceção da amostra AMCM2B, todos os espectros foram ajustados recorrendo a uma distribuição Gaussiana de campos magnéticos hiperfinos, ou seja, de sextetos, (pouco significativa no espectro

de AMCM2A), e a um dobleto (sítio de ferro paramagnético ou superparamagnético). No caso da amostra AMCM2B, o ajuste do espectro foi bem conseguido considerando apenas uma distribuição Gaussiana de desdobramentos quadrupolares, ou seja, de dobletos. Os resultados Mössbauer das amostras A e B da primeira preparação (com menos quantidade de MCM-41) não diferem significativamente. O facto de apenas uma distribuição de campos magnéticos hiperfinos ser suficiente para ajustar o espectro e com valores de desvio isomérico próximo de $0,30 \text{ mm s}^{-1}$ (característico da Fe^{3+} nas espinelas de ferro) indica um elevado grau de oxidação das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ preparadas na presença de MCM-41. Por outro lado, a coexistência da distribuição de sextetos e do dobleto sugere alguma amplitude na distribuição do tamanho das partículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, propondo-se que os dobletos se devam a partículas de menor dimensão, em estado superparamagnético. Quando comparadas com os espectros das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ anteriormente apresentadas, pode-se concluir que a amostra AMCM1B apresenta um aspecto de distribuição semelhante ao da amostra AM19. É de salientar que para estas duas amostras, AMCM1B e AM19, foi obtido o mesmo valor de tamanho médio de cristalites, $D = 10 \text{ nm}$.

No caso da segunda preparação (com maior quantidade de MCM-41), pelo contrário, há uma clara diferença entre as amostras A e B. A percentagem da fase magnética, cerca de 30% na amostra A, passa a ser residual na amostra B e a predominância de interações quadrupolares dos núcleos de ^{57}Fe sugere um tamanho menor e mais homogéneo das nanopartículas e um comportamento superparamagnético.

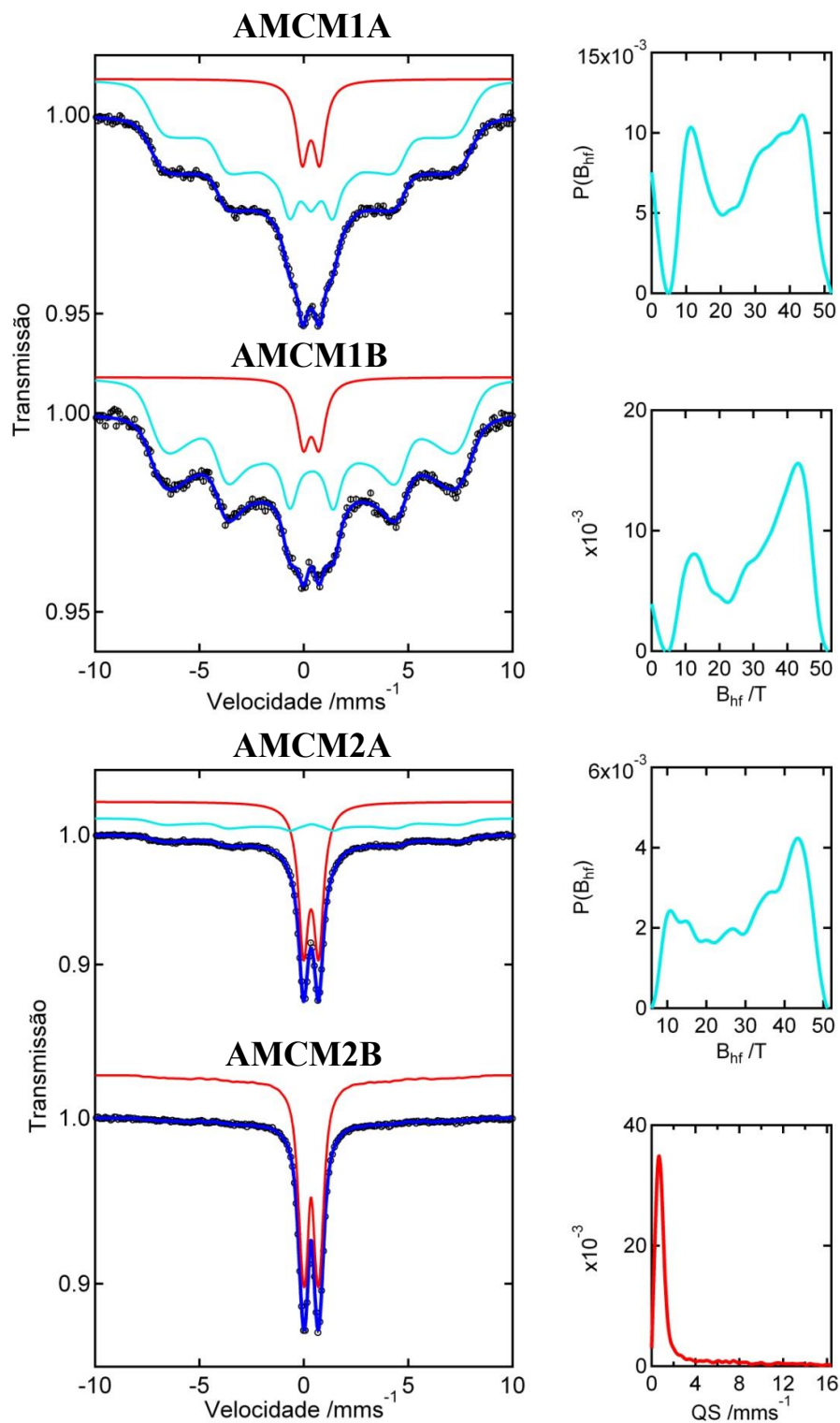


Figura 5.18. Espectros Mössbauer obtidos a 290 K, das amostras sintetizadas.

Tabela 5.11. Parâmetros hiperfinos extraídos do ajuste aos espectros Mössbauer das amostras apresentadas na Figura $\langle B_{\text{hf}}(\sigma) \rangle$: valor médio do campo magnético hiperfino (e desvio padrão da distribuição Gaussiana associada); δ : desvio isomérico; ϵ : desvio quadrupolar (subespectro magnético); QS: desdobramento quadrupolar (subespectro paramagnético); Γ – largura a meia altura da linha Mössbauer de cada sub-subespectro (forma Lorentziana) da distribuição Gaussiana; I: área relativa do subespectro.

Amostra	Sítio	$\langle B \rangle(\sigma) /$ T	$\delta / \text{mm s}^{-1}$	ϵ ou QS / mm s^{-1}	$\langle \text{QS} \rangle(\sigma)$ / mm.s^{-1}	$\Gamma /$ mm.s^{-1}	I /%
AMCM1A	1	28(14)	0,345(8)	-0,006(9)	-	0,65	89,6
	2	-	0,342(5)	0,83(3)	-	0,68(6)	10,4
AMCM1B	1	31(13)	0,360(1)	-0,02(1)	-	0,7	90,9
	2	-	0,35(1)	0,76(7)	-	0,7(1)	9,1
AMCM2A	1	30(12)	0,38(2)	-0,00(1)	-	0,60	34,1
	2	-	0,346(1)	0,723(1)		0,57(1)	65,9
AMCM2B	1	-	0,347(5)	-	2(3)	0,20	100

Na Figura 5.19 apresentam-se as curvas resultantes do estudo da magnetização em função da temperatura (ZFC e FC) e do campo magnético para as amostras AMCM2 (A e B). A observação destas curvas permite verificar que, tal como era de esperar e de acordo com os resultados de espectroscopia de Mössbauer, as duas amostras apresentam um comportamento claramente superparamagnético à temperatura ambiente. Quando comparados com os resultados das amostras anteriores, é ainda notório o abaixamento no valor da temperatura de bloqueio, o que está de acordo com o facto de estas amostras apresentarem um tamanho mais pequeno. Por outro lado, nas curvas ZFC das duas amostras é identificado apenas um máximo (associado à temperatura de bloqueio) próximo de 100 K, que, de acordo com os resultados anteriores indica que as nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ destas amostras são claramente mais pequenas.

Pode-se assim concluir que os resultados de Mössbauer e magnetização mostram que esta metodologia de síntese pode levar a nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ de menor tamanho, maior grau de oxidação e comportamento superparamagnético à temperatura ambiente. O valor de campo magnético coercivo, embora ligeiramente superior ao determinados para as amostras sem CMCM-41, é suficientemente pequeno para se poder considerar como próximo de zero. A diminuição no valor de magnetização de saturação está certamente associado à presença de MCM-41 e ao tamanho mais pequenos das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$.

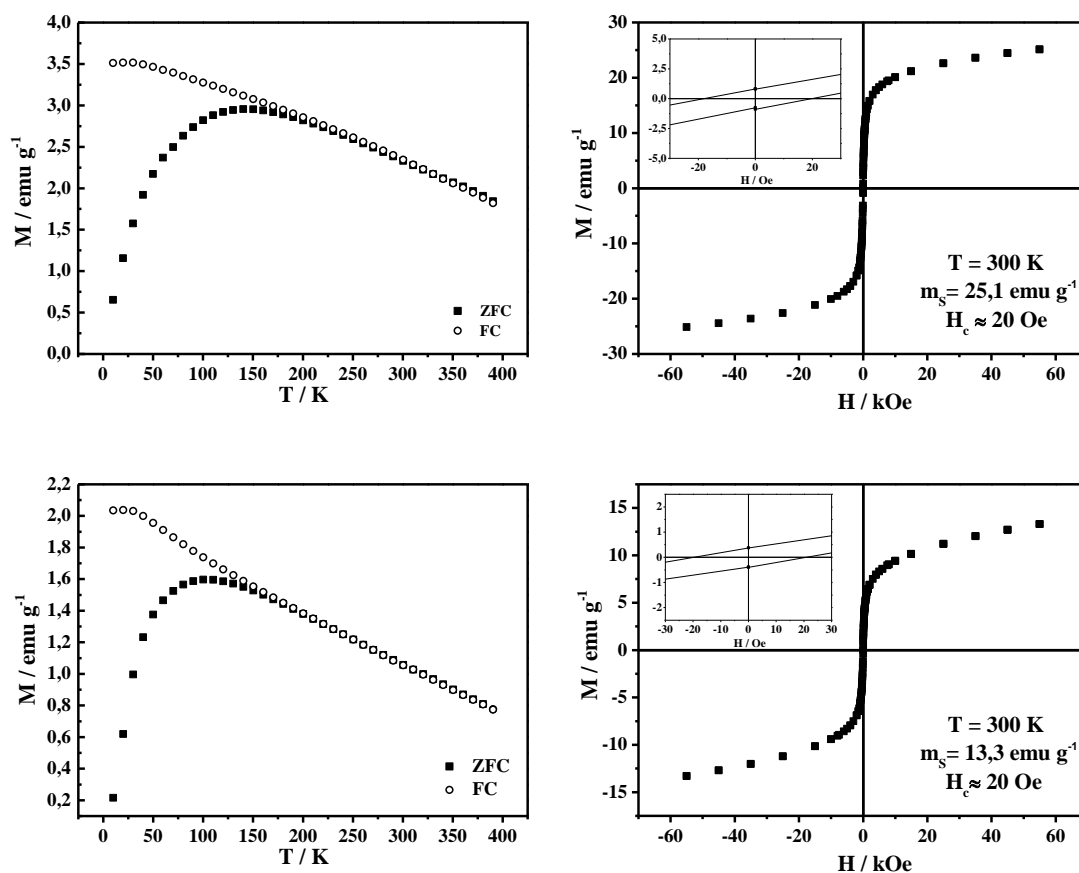


Figura 5.19. Curvas de magnetização em função da temperatura medidas a 50 Oe (à esquerda) e curvas de magnetização em função do campo aplicado a 300 K (à direita), das amostras AMCM2A (em cima) e AMCM2B (em baixo).

5.2.3. Medidas de hipertermia magnética

Seguindo o mesmo protocolo que no ponto 5.1.3 (medições feitas em solução de citrato de sódio), foram realizadas medidas de libertação de calor quando as nanopartículas são sujeitas a um campo magnético alternado, para as amostras obtidas na presença de MCM-41, cujos resultados se encontram exibidos na Figura 5.20. Através da equação 5.4 foram calculados os valores de SAR (entre 10 e 70 s, dependendo da amostra) para as amostras sintetizadas (Tabela 5.12).

Numa análise rápida, pode observar-se uma relação entre o tamanho das partículas e o valor da taxa de absorção específica, tal como anteriormente verificado, sendo que para partículas de tamanho mais pequeno, como é o caso da amostra AMCM2B, o valor de SAR é mais baixo, e para as partículas maiores, AMCM1 (A e B), o valor é mais elevado.

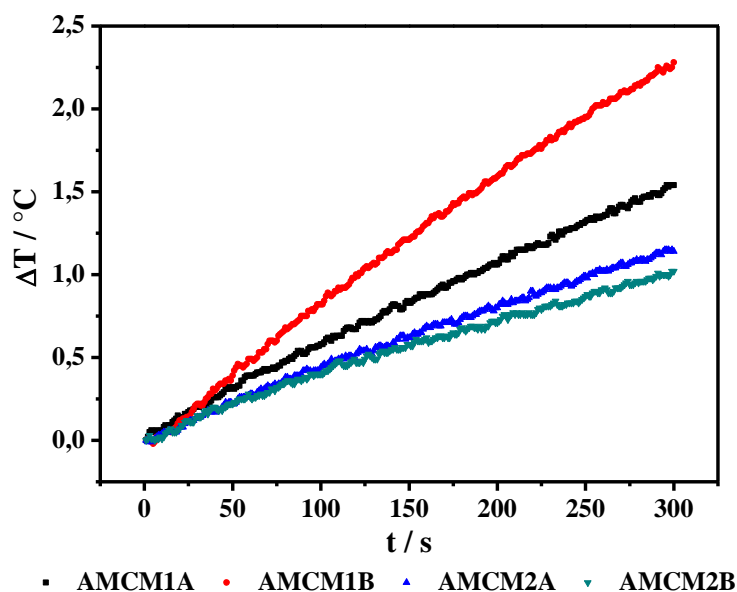


Figura 5.20. Variação da temperatura em função do tempo para as amostras sintetizadas na presença de MCM-41, quando sujeitas a um campo magnético alternado.

Tabela 5.12. Valores de SAR das amostras sintetizadas na presença de MCM-41.

Amostra	SAR / W g ⁻¹
AMCM1A	45,24
AMCM1B	52,36
AMCM2A	40,16
AMCM2B	29,63

No entanto, o tamanho das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ não é certamente o único fator a influenciar os resultados. Considerando que o tamanho médio calculado difere apenas em 1 nm, os valores de SAR exibidos pelas amostras AMCM1 (A e B), são muito díspares comparativamente com os valores obtidos para as amostras AMCM2 (A e B). Quando comparados com o valor determinado para a amostra AM19 ($\text{SAR} = 53,03 \text{ W g}^{-1}$), cujas partículas apresentam um tamanho médio semelhante ($\approx 10 \text{ nm}$), os valores exibidos na Tabela 5.12 são consideravelmente inferiores. Esta diferença de valores é, muito provavelmente, causada pela presença do MCM-41, sendo bastante notória no caso das amostras AMCM2 cuja quantidade utilizada (0,400 g) foi superior à utilizada nas amostras AMCM1 (0,200 g).

Face aos resultados obtidos é prudente dizer que a presença de MCM-41 em amostras de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ não parece ter trazido qualquer benefício no que diz respeito à otimização do valor de SAR. No entanto, se considerarmos que esta é uma boa via para

funcionalizar nanopartículas de tipo magnetite para aplicação em biomedicina, o resultado pode ser considerado bom, uma vez que os valores de SAR obtidos são da mesma ordem de grandeza de outros reportados na bibliografia (ver Tabela 5.9), e as nanopartículas exibem um comportamento claramente superparamagnético, o que poderá ser vantajoso para este tipo de aplicação.

6. Conclusões e perspectivas futuras

Neste trabalho, foram sintetizadas amostras de tipo magnetite recorrendo a diferentes métodos de síntese, tendo em vista a sua avaliação como nano-geradores de energia sob a forma de calor por indução magnética.

Tal como pretendido, os diferentes métodos de síntese utilizados permitiram a obtenção de amostras puras de tipo magnetite. Para evitar o uso de surfactantes, utilizado para controlar o tamanho das NPs, foi adotada uma nova metodologia, mais amiga do ambiente, efetuando as sínteses em meio gelatinoso (gelatina alimentar e ágar). As nanopartículas assim preparadas apresentam tamanhos semelhantes aos das NPs obtidas pelos outros métodos tradicionais (≈ 11 nm), exibindo, além disso, valores de SAR bastante superiores (no caso da gelatina), o que torna esta metodologia de síntese, simples, económica e mais adequada à preservação do ambiente, uma boa alternativa aos outros métodos.

De um modo geral, verificou-se haver concordância entre os tamanhos médios das nanopartículas calculados através dos dados obtidos por XRD (equação de Scherrer) e através da observação das imagens TEM, tendo a análise da distribuição de tamanhos evidenciado uma dispersão mais significativa no caso da amostra obtida por precipitação simples, o que mostra o papel positivo do surfactante, mas também o do meio gelatinoso.

Tanto os resultados da caracterização estrutural por difração de raios-X (nomeadamente, a determinação do parâmetro de malha por refinamento de Rietveld) como os resultados de espectroscopia Mössbauer, mostraram claramente que as amostras obtidas têm algum grau de oxidação, ou seja, correspondem mais corretamente a uma formulação do tipo $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$. É de realçar, contudo, que a amostra obtida em meio de gelatina apresentou menor grau de oxidação, como deduzido pelos resultados de espectroscopia Mössbauer.

Todas as amostras apresentaram propriedades magnéticas semelhantes (comportamento ferrimagnético), como esperado, e as curvas de magnetização em função da temperatura são concordantes com a existência de alguma distribuição no tamanho das partículas.

A otimização do sistema de medidas de libertação de energia calorífica na presença de um campo magnético alternado permitiu identificar vários parâmetros

experimentais, não associados às características físicas das NPs, que se verificou influenciarem fortemente os resultados experimentais. Estes parâmetros não são geralmente referidos na literatura nem, ao que se sabe, foram alvo de sistematização, o que está certamente relacionado com a disparidade de resultados encontrados na bibliografia disponível e a dificuldade encontrada na sua comparação. A otimização de todos os parâmetros considerados críticos foi fundamental para se perceber melhor os diferentes fatores que podem influenciar as medidas em causa e, conseqüentemente, os valores de SAR calculados, e para se garantir a reprodutibilidade dos resultados, condição indispensável em ciência experimental. As medidas realizadas depois da otimização do sistema e a comparação de resultados permitiram concluir que, de uma maneira geral, os valores de SAR obtidos para as nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ sintetizadas (com tamanhos médios semelhantes) dependem do método de síntese utilizado. Por outro lado, comparando os valores obtidos com outros anteriormente publicados, verifica-se que, em alguns casos, como o da amostra sintetizada em gelatina ($\text{SAR} \sim 180 \text{ W g}^{-1}$), são significativamente superiores. O resultado obtido para as nanopartículas sintetizadas em meio de gelatina poderá ser explicado pela possível presença de grupos funcionais da gelatina à superfície das partículas e/ou por efeitos de cargas superficiais, que promovam a dispersão das nanopartículas, aumentando a sua eficácia na libertação de energia calorífica. No entanto, estas hipóteses carecem de confirmação por outras vias, devendo por isso ser efetuados estudos mais aprofundados de caracterização de nanopartículas sintetizadas por esta metodologia.

Nos ensaios exploratórios para a inserção das nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ na matriz de MCM-41, a caracterização por XRD e TEM revelaram a destruição da estrutura do MCM-41. No entanto, as nanopartículas de $\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ provenientes destes ensaios apresentam tamanhos inferiores (6 a 9 nm) aos obtidos por qualquer um dos outros métodos de síntese, exibindo um comportamento claramente do tipo superparamagnético, vantajoso para utilização em aplicações biomédicas. Embora os valores de SAR calculados tenham sido bastante inferiores aos apresentados pelas nanopartículas de magnetite simples, os resultados globais são incentivadores, pelo que esta metodologia de síntese deve continuar a ser explorada, modificando algumas das condições de preparação, e ensaiando outro tipo de material mesoporoso.

Globalmente, pode dizer-se que os objetivos deste trabalho de tese foram atingidos, uma vez que se conseguiu otimizar o sistema de medidas de libertação de calor de forma a garantir a reprodutibilidade dos resultados, realizar um estudo da influência do método

de síntese nas propriedades físicas, magnéticas e de liberação de calor de nanopartículas de tipo magnetite e, ainda, iniciar a conjugação das nanopartículas magnéticas com materiais mesoporosos para a sua potencial utilização numa aplicação tão relevante como o tratamento do cancro. Os resultados obtidos incentivam, sem qualquer dúvida, a continuação desta investigação. Seguindo as conclusões do trabalho desenvolvido, fica clara a necessidade de continuar no sentido de estreitar a dispersão verificada no tamanho das nanopartículas e explorar melhor as potencialidades da síntese em meio gelatinoso e as sínteses na presença de estruturas mesoporosas adequadas.

7. Estimativa técnico-económica

A estimativa dos custos associados à realização deste trabalho foi efetuada tendo em conta os gastos fundamentais, não tendo sido considerados alguns custos como por exemplo, água e eletricidade. Na Tabela 7.1 encontra-se uma estimativa dos custos referentes aos reagentes utilizados nas diversas sínteses (não foi contabilizada a água destilada, etanol, acetona).

Tabela 7.1. Preços dos reagentes usados no trabalho e custos inerentes ao trabalho realizado.

Reagentes	Preço unitário / €	Quantidade usada (aprox.)	Total líquido / €
Ácido oleico, 1 L	28,00	27 mL	0,75
Ácido sulfúrico, 1000 mL	20,65	28 mL	0,58
Ágar, 100 g	57,36	8 g	4,58
Amónia, 2,5 L	14,40	216 mL	1,24
Brometo de tetradeciltrimetilamónio, 100 g	16,28	8 g	1,30
Cloreto de ferro (III) hexahidratado, 250 g	31,30	193 g	24,16
Difenil éter, 1 kg	28,86	86 g	2,48
Dodecil sulfato de sódio, 25 g	43,20	13 g	22,46
Gelatina alimentar, 9 g	0,69	22 g	1,69
Oleilamina, 100 g	33,60	28 g	9,41
Silicato de sódio, 3 L	71,90	8 mL	0,19
Sulfato de ferro (II) heptahidratado, 500 g	26,95	99 g	5,34
Sulfito de sódio, 250 g	18,80	1 g	0,08
Total (s / IVA)			74,26
c / IVA			91,34

No âmbito do sistema de gestão dos resíduos da FCUL todos os resíduos provenientes das sínteses realizadas foram armazenados em recipientes próprios para

posterior recolha e tratamento por parte de uma entidade responsável pelo tratamento de resíduos, pelo que estes custos também não foram contabilizados.

Para além dos reagentes, este trabalho teve gastos relacionados com as diferentes técnicas de caracterização, que foram divididos em duas tabelas. Na tabela 7.2, apresentam-se os gastos efetuados com análises de TEM (aquisição de serviço fora da FCUL).

Tabela 7.2. Custo (c / IVA) associado à preparação e análise das amostras por TEM (aquisição de serviços ao exterior).

Serviços	Custos do serviço / €	Nº de ensaios	Total líquido / €
TEM	80,0 / h	2 h	190,0
	2,5 / amostra	12	

Na tabela 7.3 estão resumidos os custos associados às outras técnicas de caracterização, XRD, magnetometria e espectroscopia Mössbauer, cujas medidas foram realizadas na FCUL. No caso da espectroscopia Mössbauer o cálculo teve como base o custo da ampola (7000 €) e o seu tempo de vida (≈ 3 anos). Para a magnetometria os custos tiveram como base o preço do hélio/manutenção (13 € por litro). Finalmente, nos custos associados à difração de raios-X foi considerado um valor que teve em conta o preço da ampola (5000 €) e o contrato de manutenção. Nestes cálculos não foi contabilizado o custo de amortização dos equipamentos.

Tabela 7.3. Custo (c / IVA) associado às técnicas de caracterização utilizadas com equipamento da FCUL/ centros de investigação (custos com consumíveis).

Técnicas	Custo por dia / €	Tempo de aquisição por amostra / h	Nº de ensaios	Total líquido / €
Espectroscopia Mössbauer	6	48	20	200
Magnetometria	100	24	10	1000
XRD	30	1/2	33	20
Total				1200

Contabilizando os gastos anteriormente referidos, este trabalho teve um custo aproximado de 1480 €.

Bibliografia

- [1] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones and J. Dobson, “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine”, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 36, no. 13, pp. 167–181, 2003.
- [2] P. Tartaj, M. A. D. P. Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, T. González-Carreño and C. J. Serna, “The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine”, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 36, no. 13, pp. 182–197, 2003.
- [3] L. L. Vatta, R. D. Sanderson and K. R. Koch, “Magnetic nanoparticles: properties and potential applications”, *Pure Appl. Chem.*, vol. 78, no. 9, pp. 1793–1801, 2006.
- [4] A. Ito, M. Shinkai, H. Honda and T. Kobayashi, “Medical application of functionalized magnetic nanoparticles”, *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 100, no. 1, pp. 1–11, 2005.
- [5] N. T. K. Thanh, *Magnetic Nanoparticles: From Fabrication to Clinical Applications*, Ilustrada. CRC Press, 2012.
- [6] L. Cademirtiri and G. A. Ozin, *Concepts of Nanochemistry*, Wiley-VCH, 2009.
- [7] I. K. Puri and R. Ganguly, “Particle transport in therapeutic magnetic fields”, *Annu. Rev. Fluid Mech.*, vol. 46, no. 1, pp. 407–440, 2014.
- [8] H. S. Huang and J. F. Hainfeld, “Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia”, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 8, pp. 2521–32, 2013.
- [9] N. V. A and S. R. B, “Mesoporous material, MCM-41: new drug carrier”, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 4, no. 2, 2011.
- [10] J. Van der Zee, “Heating the patient: a promising approach?”, *Ann. Oncol.*, vol. 13, no. 8, pp. 1173–1184, 2002.
- [11] B. Hildebrandt, P. Wust, O. Ahlers, A. Dieing, G. Sreenivasa, T. Kerner, R. Felix and H. Riess, “The cellular and molecular basis of hyperthermia”, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 43, no. 1, pp. 33–56, 2002.
- [12] K. Maier-Hauff, F. Ulrich, D. Nestler, H. Niehoff, P. Wust, B. Thiesen, H. Orawa, V. Budach and A. Jordan, “Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients

with recurrent glioblastoma multiforme”, *J. Neurooncol.*, vol. 103, no. 2, pp. 317–24, 2011.

[13] K. Maier-Hauff, R. Rothe, R. Scholz, U. Gneveckow, P. Wust, B. Thiesen, A. Feussner, A. von Deimling, N. Waldoefner, R. Felix and A. Jordan, “Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme”, *J. Neurooncol.*, vol. 81, no. 1, pp. 53–60, 2007.

[14] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fähling and R. Felix, “Magnetic fluid hyperthermia (mfh): cancer treatment with ac magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles”, vol. 201, pp. 413–419, 1999.

[15] P. Moroz, S. K. Jones and B. N. Gray, “Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions”, *Int. J. Hyperthermia*, vol. 18, no. 4, pp. 267–84, 2002.

[16] M. Johannsen, U. Gneveckow, B. Thiesen, K. Taymoorian, C. H. Cho, N. Waldöfner, R. Scholz, A. Jordan, S. A. Loening and P. Wust, “Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution”, *Eur. Urol.*, vol. 52, no. 6, pp. 1653–61, 2007.

[17] K. G. Hofer, “Hyperthermia and cancer”, *Eur. Cells Mater.*, vol. 3, pp. 67–69, 2002.

[18] Y. Ren, H. Zhang, B. Chen, J. Cheng, X. Cai, R. Liu, G. Xia, W. Wu, S. Wang, J. Ding, C. Gao, J. Wang, W. Bao, L. Wang, L. Tian, H. Song and X. Wang, “Multifunctional magnetic Fe₃O₄ nanoparticles combined with chemotherapy and hyperthermia to overcome multidrug resistance”, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 7, pp. 2261–9, 2012.

[19] A. Jordan, R. Scholz, K. Maier-hau, M. Johannsen, P. Wust, J. Nadobny, H. Schirra, H. Schmidt, S. Deger, S. Loening, W. Lanksch and R. Felix, “Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia”, vol. 225, no. 1-2, pp.118-126, 2001.

[20] B. Thiesen and A. Jordan, “Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia”, *Int. J. Hyperthermia*, vol. 24, no. 6, pp. 467–74, 2008.

- [21] U. Jeong, X. Teng, Y. Wang, H. Yang and Y. Xia, “Superparamagnetic colloids: controlled synthesis and niche applications”, *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 1, pp. 33–60, 2007.
- [22] É. D. T. de Lacheisserie, D. Gignoux and M. Schlenker, *Magnetism*, Springer Science & Business Media, 2005.
- [23] N. Knobel, W. C. Nunes, L. M. Socolovsky, E. De Biasi, J. M. Vargas and J. C. Denardin, “Superparamagnetism and other magnetic features in granular materials: a review on ideal and real systems”, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 8, pp. 2836–2857, 2008.
- [24] A. G. Kolhatkar, A. C. Jamison, D. Litvinov, R. C. Willson and T. R. Lee, "Tuning the magnetic properties of nanoparticles", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 8, pp. 15977–6009, 2013
- [25] S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset and E. Duguet, “Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy”, *J. Mater. Chem.*, vol. 14, no. 14, p. 2161, 2004.
- [26] A. G. Roca, B. Wiese, J. Timmis, G. Vallejo-Fernandez and K. O’Grady, “Effect of frequency and field amplitude in magnetic hyperthermia”, *IEEE Trans. Magn.*, vol. 48, no. 11, pp. 4054–4057, 2012.
- [27] M. E. De Sousa, M. B. Ferna, V. Raap, P. C. Rivas, P. Mendoza, P. Girardin, G. A. Pasquevich, J. L. Alessandrini, D. Muraca and F. H. Sa, “Stability and relaxation mechanisms of citric acid coated magnetite nanoparticles for magnetic hyperthermia”, *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, no. 10, pp. 5436–5445, 2013.
- [28] P. Wust, U. Gneveckow, M. Johannsen, D. Böhmer, T. Henkel, F. Kahmann, J. Sehouli, R. Felix, J. Ricke and A. Jordan, “Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy – feasibility, tolerance and achieved temperatures”, *Int. J. Hyperth.*, vol. 22, no. 8, pp. 673–685, 2006.
- [29] B. Mehdaoui, A. Meffre, J. Carrey, S. Lachaize, L.-M. Lacroix, M. Gougeon, B. Chaudret and M. Respaud, “Optimal size of nanoparticles for magnetic hyperthermia: a combined theoretical and experimental study”, *Adv. Funct. Mater.*, vol. 21, no. 23, pp. 4573–4581, 2011.
- [30] J. Carrey, B. Mehdaoui and M. Respaud, “Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization”, *J. Appl. Phys.*, vol. 109, no. 8, p. 083921, 2011.

- [31] Peter Wust, U. Gneveckow, M. Johannsen, D. Böhmer, T. Henkel, F. Kahmann, J. Sehouli, R. Felix, J. Rieke and A. Jordan, “Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy – feasibility, tolerance and achieved temperatures”, *Int. J. Hyperth.*, vol. 22, no. 8, pp. 673–685, 2006.
- [32] J. S. Tsuji, A. D. Maynard, P. C. Howard, J. T. James, C.-W. Lam, D. B. Warheit and A. B. Santamaria, “Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: risk assessment of nanoparticles”, *Toxicol. Sci.*, vol. 89, no. 1, pp. 42–50, 2006.
- [33] A. D. Maynard, “Nanotechnology: the next big thing, or much ado about nothing?”, *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 51, no. 1, pp. 1–12, 2007.
- [34] G. Vallejo-Fernandez, O. Whear, A. G. Roca, S. Hussain, J. Timmis, V. Patel, and K. O’Grady, “Mechanisms of hyperthermia in magnetic nanoparticles”, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 46, no. 31, p. 312001, 2013.
- [35] M. Jeun, S. Lee, J. K. Kang, A. Tomitaka, K. W. Kang, Y. Il Kim, Y. Takemura, K. Chung and J. Kwak, “Physical limits of pure superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for a local hyperthermia agent in nanomedicine”, *Appl. Phys. Lett.*, vol. 092406, p. 92406, 2012.
- [36] R. Müllera, S. Dutza, A. Neebb, A. C. B. Catob and M. Zeisberger, “Magnetic heating effect of nanoparticles with different sizes and size distributions”, *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 328, pp. 80–85, 2013.
- [37] L. Lartigue, C. Innocenti, T. Kalaivani, A. Awwad, M. del M. S. Duque, Y. Guari, J. Larionova, C. Guérin, J.-L. G. Montero, V. Barragan-Montero, P. Arosio, A. Lascialfari, D. Gatteschi and Claudio Sangregorio, “Water-dispersible sugar-coated iron oxide nanoparticles. an evaluation of their relaxometric and magnetic hyperthermia properties”, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 133, pp. 10459–10472, 2011.
- [38] P. Nadoll, T. Angerer, J. L. Mauk, D. French and J. Walshe, “The chemistry of hydrothermal magnetite: a review”, *Ore Geol. Rev.*, vol. 61, pp. 1–32, 2014.
- [39] W. Andrä and H. Nowak, *Magnetism in Medicine: A Handbook*. Wiley-VCH, 2007.
- [40] Z. R. Stephen, F. M. Kievit and M. Zhang, “Magnetite Nanoparticles for Medical MR Imaging”, *Mater. Today*, vol. 14, no. 11, pp. 330–338, 2012.

- [41] A. N. Belousov, “The use of magnetite nanopaticles in applied medicine”, Mater. Sci. Forum, vol. 694, no. 7-8, pp. 21–24, 2011.
- [42] J. W. M. Bulte and D. L. Kraitichman, “Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging”, NMR Biomed., vol. 17, no. 7, pp. 484–99, 2004.
- [43] A. Ito, M. Shinkai, H. Honda and T. Kobayashi, “Medical application of functionalized magnetic nanoparticles”, J. Biosci. Bioeng., vol. 100, no. 1, pp. 1–11, 2005.
- [44] A. C. Silva, T. R. Oliveira, J. B. Mamani, S. M. F. Malheiros, L. Malavolta, L. F. Pavon, T. T. Sibov, E. Amaro, A. Tannús, E. L. G. Vidoto, M. J. Martins, R. S. Santos and L. F. Gamarra, “Application of hyperthermia induced by superparamagnetic iron oxide nanoparticles in glioma treatment”, Int. J. Nanomedicine, vol. 6, pp. 591–603, 2011.
- [45] C. Martinez-Boubeta, K. Simeonidis, A. Makridis, M. Angelakeris, O. Iglesias, P. Guardia, A. Cabot, L. Yedra, S. Estradé, F. Peiró, Z. Saghi, P. a Midgley, I. Conde-Leborán, D. Serantes and D. Baldomir, “Learning from nature to improve the heat generation of iron-oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia applications”, Sci. Rep., vol. 3, p. 1652, 2013.
- [46] R. Hergt, S. Dutz, R. Müller and M. Zeisberger, “Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy”, J. Phys. Condens. Matter, vol. 18, no. 38, pp. S2919–S2934, 2006.
- [47] N. T. K. Thanh and L. a. W. Green, “Functionalisation of nanoparticles for biomedical applications”, Nano Today, vol. 5, no. 3, pp. 213–230, 2010.
- [48] W. Zhou, P. Gao, L. Shao, D. Caruntu, M. Yu, J. Chen and C. J. O’Connor, “Drug-loaded, magnetic, hollow silica nanocomposites for nanomedicine”, Nanomedicine, vol. 1, no. 3, pp. 233–7, 2005.
- [49] H. Mamiya, “Recent advances in understanding magnetic nanoparticles in ac magnetic fields and optimal design for targeted hyperthermia”, J. Nanomater., vol. 2013, pp. 1–17, 2013.
- [50] M. Friák, A. Schindlmayr and M. Scheffler, “Ab initio study of the half-metal to metal transition in strained magnetite”, New J. Phys., vol. 9, no. 1, pp. 5–5, 2007.

- [51] T. J. Daou, G. Pourroy, S. Bégin-Colin, J. M. Grenèche, C. Ulhaq-Bouillet, P. Legaré, P. Bernhardt, C. Leuvrey and G. Rogez, “Hydrothermal synthesis of monodisperse magnetite nanoparticles”, *Chem. Mater.*, vol. 18, no. 18, pp. 4399–4404, 2006.
- [52] J. S. Salazar, L. Perez, O. Abril, L. T. Phuoc, D. Ihiwakrim, M. Vasquez, J. M. Grenèche, S. Begin-Colin and G. Pourroy, “Magnetic iron oxide nanoparticles in 10–40 nm range: composition in terms of magnetite/maghemite ratio and effect on the magnetic properties”, *Chem. Mater.*, vol. 23, pp. 1379–1386, 2011.
- [53] M. D. Carvalho, F. Henriques, L. P. Ferreira, M. Godinho and M. M. Cruz, “Iron oxide nanoparticles: the influence of synthesis method and size on composition and magnetic properties”, *J. Solid State Chem.*, vol. 201, pp. 144–152, 2013.
- [54] K. E. Sickafus, J. M. Wills and N. W. Grimes, “Structure of spinel”, *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 82, no.12, 1999.
- [55] A. F. Orchard, *Magnetochemistry*. New York: Oxford University Press, 2003.
- [56] T. Neuberger, B. Schöpf, H. Hofmann, M. Hofmann and B. Von Rechenberg, “Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system”, *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 293, no. 1, pp. 483–496, 2005.
- [57] D. A. Mbeh, R. França, Y. Merhi, X. F. Zhang, T. Veres, E. Sacher and L. Yahia, “In vitro biocompatibility assessment of functionalized magnetite nanoparticles: biological and cytotoxicological effects”, *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 100, no. 6, pp. 1637–46, 2012.
- [58] E. M. Múzquiz-Ramos, D. A. Cortés-Hernández, J. C. Escobedo-Bocardo, A. Zugasti-Cruz, X. S. Ramírez-Gómez and J. G. Osuna-Alarcón, “In vitro and in vivo biocompatibility of apatite-coated magnetite nanoparticles for cancer therapy”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 24, no. 4, pp. 1035–41, 2013.
- [59] A.-H. Lu, E. L. Salabas, and F. Schüth, “Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 46, no. 8, pp. 1222–44, 2007.

- [60] J. Qu, G. Liu, Y. Wang and R. Hong, "Preparation of Fe₃O₄-chitosan nanoparticles used for hyperthermia", *Adv. Powder Technol.*, vol. 21, no. 4, pp. 461–467, 2010.
- [61] K. Petcharoen and A. Sirivat, "Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method", *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 177, no. 5, pp. 421–427, 2012.
- [62] S. A. Kulkarni, P. S. Sawadh, P. K. Palei and K. K. Kokate, "Effect of synthesis route on the structural, optical and magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles", *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 1, pp. 1945–1949, 2014.
- [63] L. Shen, Y. Qiao, Y. Guo, S. Meng, G. Yang, M. Wu and J. Zhao, "Facile co-precipitation synthesis of shape-controlled magnetite nanoparticles", *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 1, pp. 1519–1524, 2014.
- [64] M. Salavati-Niasari, T. Mahmoudi and O. Amiri, "Easy synthesis of magnetite nanocrystals via coprecipitation method", *J. Clust. Sci.*, vol. 23, no. 2, pp. 597–602, 2012.
- [65] R. G. RuizMoreno, A. I. Martínez, C. Falcony, R. Castro-Rodriguez, P. Bartolo-Pérez and M. Castro-Román, "One pot synthesis of water compatible and monodisperse magnetite nanoparticles", *Mater. Lett.*, vol. 92, pp. 181–183, 2013.
- [66] K. Petcharoen and A. Sirivat, "Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method", *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 177, no. 5, pp. 421–427, 2012.
- [67] S. Asuha, B. Suyala, X. Siqintana and S. Zhao, "Direct synthesis of Fe₃O₄ nanopowder by thermal decomposition of Fe-urea complex and its properties", *J. Alloys Compd.*, vol. 509, no. 6, pp. 2870–2873, 2011.
- [68] D. K. Jha, M. Shameem, A. B. Patel, A. Kostka, P. Schneider, A. Erbe, and P. Deb, "Simple synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles as highly efficient contrast agent", *Mater. Lett.*, vol. 95, pp. 186–189, 2013.
- [69] S. Sun and H. Zeng, "Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no. 28, pp. 8204–8205, 2002.
- [70] A. G. Roca, M. P. Morales, K. O'Grady and C. J. Serna, "Structural and magnetic properties of uniform magnetite nanoparticles prepared by high temperature

decomposition of organic precursors”, *Nanotechnology*, vol. 17, no. 11, pp. 2783–2788, 2006.

[71] J. Salado, M. Insausti, L. Lezama, I. G. De Muro and E. Goikolea, “Preparation and characterization of monodisperse Fe_3O_4 nanoparticles: an electron magnetic resonance study”, *Chem. Mater.*, vol. 23, no. 11 pp. 2879–2885, 2011.

[72] A. A. Al-Ghamdi, F. Al-Hazmi, R. M. Al-Tuwirqi, F. Alnowaiser, O. a. Al-Hartomy, F. El-Tantawy and F. Yakuphanoglu, “Synthesis, magnetic and ethanol gas sensing properties of semiconducting magnetite nanoparticles”, *Solid State Sci.*, vol. 19, pp. 111–116, 2013.

[73] W. Zhang, S. Jia, S. Wu, S. Zhang, and Y. Liu, “Effects of alkaline precipitating agents on synthesis of magnetite nanomaterials by hydrothermal d-glucose method”, *J. Nanoparticle Res.*, vol. 15, no. 6, p. 1701, 2013.

[74] T. Iwasaki, N. Mizutani, S. Watano and T. Yanagida, “Hydrothermal synthesis of magnetite nanoparticles via sequential formation of iron hydroxide precipitates”, *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 355–365, 2012.

[75] A. Demir, R. Topkaya and A. Baykal, “Green synthesis of superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles with maltose: its magnetic investigation”, *Polyhedron*, vol. 65, pp. 282–287, 2013.

[76] M. Darbandi, F. Stromberg, J. Landers, N. Reckers, B. Sanyal, W. Keune and H. Wende, “Nanoscale size effect on surface spin canting in iron oxide nanoparticles synthesized by the microemulsion method”, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 45, no. 19, p. 195001, 2012.

[77] Z. L. Liu, X. Wang, K. L. Yao, G. H. Du, Q. H. Lu, Z. H. Ding, J. Tao, Q. Ning, X. P. Luo, D. Y. Tian and D. Xi, “Synthesis of magnetite nanoparticles in W/O microemulsion”, *J. Mater. Sci.*, vol. 39, no. 7, pp. 2633–2636, 2004.

[78] T. Lu, J. Wang, J. Yin, A. Wang, X. Wang and T. Zhang, “Surfactant effects on the microstructures of Fe_3O_4 nanoparticles synthesized by microemulsion method”, *Colloids Surf. ,A* , vol. 436, pp. 675–683, 2013.

[79] C. S. Kuroda, M. Maeda, H. Nishibiraki, N. Matsushita, H. Handa and M. Abe, “Styrene-coated iron nanobeads for medical use”, *IEEE Trans. Magn.*, vol. 41, no. 10, pp. 4117 – 4119, 2005.

- [80] L. Lartigue, K. Oumzil, Y. Guari, J. Larionova, C. Guérin, J.-L. Montero, V. Barragan-Montero, C. Sangregorio, A. Caneschi, C. Innocenti, T. Kalaivani, P. Arosio and a Lascialfari, “Water-soluble rhamnase-coated Fe_3O_4 nanoparticles”, *Org. Lett.*, vol. 11, no. 14, pp. 2992–5, 2009.
- [81] N. V Jadhav, A. I. Prasad, A. Kumar, R. Mishra, S. Dhara, K. R. Babu, C. L. Prajapat, N. L. Misra, R. S. Ningthoujam, B. N. Pandey and R. K. Vatsa, “Synthesis of oleic acid functionalized Fe_3O_4 magnetic nanoparticles and studying their interaction with tumor cells for potential hyperthermia applications”, *Colloids Surf. B*, vol. 108, pp. 158–68, 2013.
- [82] A. Parracino, G.P. Gajula, A.K. di Gannero, M.T. Neves-Petersen, J. Rafaelsen and S.B. Petersen, “Towards nanoscale biomedical devices in medicine: biofunctional and spectroscopic characterization of superparamagnetic nanoparticles”, *J. Fluorescence*, vol. 21, no. 2, pp. 663–672, 2011.
- [83] C. Barbe, J. Bartlett, L. Kong, K. Finnie, H. Q. Lin, M. Larkin, S. Calleja, A. Bush and G. Calleja, “Silica Particles: A Novel Drug-Delivery System”, *Adv. Mater.*, vol. 16, no. 21, pp. 1959–1966, 2004.
- [84] A. Guerrero-Martínez, J. Pérez-Juste and L. M. Liz-Marzán, “Recent progress on silica coating of nanoparticles and related nanomaterials”, *Adv. Mater.*, vol. 22, no. 11, pp. 1182–95, 2010.
- [85] P. Lu, J.-L. Zhang, Y.-L. Liu, D.-H. Sun, G.-X. Liu, G.-Y. Hong and J.-Z. Ni, “Synthesis and characteristic of the $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Eu}(\text{DBM})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{SiO}_2$ luminomagnetic microspheres with core-shell structure”, *Talanta*, vol. 82, no. 2, pp. 450–7, 2010.
- [86] R. Hao, R. Xing, Z. Xu, Y. Hou, S. Gao and S. Sun, “Synthesis, functionalization, and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles”, *Adv. Mater.*, vol. 22, no. 25, pp. 2729–42, 2010.
- [87] Z. Li, M. Kawashita, N. Araki, M. Mitsumori, M. Hiraoka and M. Doi, “Magnetic SiO_2 gel microspheres for arterial embolization hyperthermia”, *Biomed. Mater.*, vol. 5, no. 6, p. 065010, 2010.
- [88] I. Urries, C. Muñoz, L. Gomez, C. Marquina, V. Sebastian, M. Arruebo and J. Santamaria, “Magneto-plasmonic nanoparticles as theranostic platforms for magnetic

resonance imaging, drug delivery and NIR hyperthermia applications”, *Nanoscale*, vol. 6, no. 15, pp. 9230–40, 2014.

[89] S. L. C. Pinho, S. Laurent, A. Roch, L. D. Carlos, L. Vander Elst, R. N. Muller and C. F. G. C. Geraldes, “Relaxometric studies of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2$ core shell nanoparticles : when the coating matters”, *J. Phys. Chem. C*, vol. 116, no. 3 pp. 2285–2291, 2012.

[90] K. Tanaka, A. Narita, N. Kitamura, W. Uchiyama, M. Morita, T. Inubushi and Y. Chujo, “Preparation for highly sensitive MRI contrast agents using core/shell type nanoparticles consisting of multiple SPIO cores with thin silica coating”, *Langmuir*, vol. 26, no. 14, pp. 11759–62, 2010.

[91] D. C. Lee, F. V Mikulec, J. M. Pelaez, B. Koo and B. A. Korgel, “Synthesis and magnetic properties of silica-coated FePt nanocrystals”, *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 23, pp. 11160–6, 2006.

[92] K. C. Souza, G. Salazar-Alvarez, J. D. Ardisson, W. A. A. Macedo and E. M. B. Sousa, “Mesoporous silica-magnetite nanocomposite synthesized by using a neutral surfactant”, *Nanotechnology*, vol. 19, no. 18, p. 185603, 2008.

[93] K. C. Souza, N. D. S. Mohallem and E. M. B. Sousa, “Mesoporous silica-magnetite nanocomposite: facile synthesis route for application in hyperthermia”, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 53, no. 2, pp. 418–427, 2009.

[94] K. J. Edler, *Template Induction of SupramolecularStructure: Synthesis and Characterization of the Mesoporous Molecular Sieve, MCM-41*, PhD. dissertation, The Australian National University, Australia, 1997.

[95] Z. AlOthman, “A review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials”, *Materials (Basel)*, vol. 5, no. 12, pp. 2874–2902, 2012.

[96] K. C. Souza, J. D. Ardisson and E. M. B. Sousa, “Study of mesoporous silica/magnetite systems in drug controlled release”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 20, no. 2, pp. 507–12, 2009.

[97] N. Vadia and S. Rajput, “Mesoporous material, MCM-41: a new drug carrier”, *Res. Asian J. Pharm. Clin.*, vol. 4, no. 2, 2011.

[98] D. Arcos, V. Fal-Miyar, E. Ruiz-Hernández, M. Garcia-Hernández, M. L. Ruiz-González, J. González-Calbet and M. Vallet-Regí, “Supramolecular mechanisms in the

synthesis of mesoporous magnetic nanospheres for hyperthermia”, *J. Mater. Chem.*, vol. 22, no. 1, p. 64, 2012.

[99] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell and M. Fröba, “Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 45, no. 20, pp. 3216–51, 2006.

[100] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli and J. S. Beck, “Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism”, *Nature* 359, pp. 710–712, 1992.

[101] D.-D. Herea, H. Chiriac and N. Lupu, “Preparation and characterization of magnetic nanoparticles with controlled magnetization”, *J. Nanoparticle Res.*, vol. 13, no. 9, pp. 4357–4369, 2011.

[102] S. Qu, H. Yang, D. Ren, S. Kan, G. Zou, D. Li and M. Li, “Magnetite nanoparticles prepared by precipitation from partially reduced ferric chloride aqueous solutions” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 215, no. 1, pp. 190–192, Jul. 1999.

[103] I. G. Carla Nunes, Anabela Valente, Martyn Pillinger, “Síntese e análise estrutural de um suporte mesoporoso: MCM - 41”, *Bol. da Soc. Port. Química*, vol. 85, p. 69, 2002.

[104] A. R. West, *Basic Solid State Chemistry*, Second Edi., 1999.

[105] M. T. Weller, *Inorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, 1994.

[106] A. J. C. Wilson, “Scherrer after sixty years: a survey and some new results in the determination of crystallite size”, *J. Appl. Cryst.*, vol. 11, pp. 102–113, 1978.

[107] R. A. Fava, Ed., *Crystal Structure and Morphology*, Academic P., 1980.

[108] J. Rodriguez-Carvajal, “Structural analysis from powder diffraction data the rietveld method”, *Physica B*, vol. 418, pp. 73–95, 1997.

[109] J. Rodriguez-Carvajal, “FullProf: Rietveld, Profile Matching & Integrated Intensities Refinement of X-ray and/or Neutron Data”, *Saclay (CEA-CNRS)*, 1998.

[110] T. Hahn, *International Tables for Crystallography*, Fourth, Kluwer Academic Publishers, 1995.

[111] O. L. Alves, “Especroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier: Feliz Combinação de Velhos Conhecimentos de Óptica, Matemática e Informática.”, *Laboratório de Química do Estado Sólido - Instituto de Química - Unicamp*.

- [112] M. de S. Haack, *Análise de Materiais por Espectroscopia no Infravermelho dentro do Sistema de Gestão de Qualidade Conforme ABNT NBR ISSO/IEC 17025*, Tese de Bacharelato, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.
- [113] T. M. Theofanides, “Infrared spectroscopy of functionalized magnetic nanoparticles”, em *Infrared Spectroscopy of Functionalized Magnetic Nanoparticles*, InTech, 2012.
- [114] J. Pinto, “Textural properties of nickel, palladium and titanium oxides supported on MCM-41 materials and their application on oxidative desulfurization of dibenzothiophene”, *Materials Research*, vol. 16, no.6, 2007.
- [115] B. Fultz, “Mössbauer Spectrometry”, em *Characterization of Materials*. Wiley, 2011.
- [116] A. I. Prasad, A. K. Parchur, R. R. Juluri, N. Jadhav, B. N. Pandey, R. S. Ningthoujam and R. K. Vatsa, “Bi-functional properties of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{YPO}_4\text{:Eu}$ hybrid nanoparticles: hyperthermia application”, *Dalton Trans.*, vol. 42, no. 14, pp. 4885–96, 2013.
- [117] V. M. Khot, a B. Salunkhe, N. D. Thorat, R. S. Ningthouja, and S. H. Pawar, “Induction heating studies of dextran coated MgFe_2O_4 nanoparticles for magnetic hyperthermia”, *Dalton Trans.*, vol. 42, no. 4, pp. 1249–58, 2013.
- [118] P. I. P. Soares, A. M. R. Alves, L. C. J. Pereira, J. T. Coutinho, I. M. M. Ferreira, C. M. M. Novo and J. P. M. R. Borges, “Effects of surfactants on the magnetic properties of iron oxide colloids”, *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 419, pp. 46–51, 2014.
- [119] M. Mascolo, Y. Pei and T. Ring, “Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases”, *Materials*, vol. 6, no. 12, pp. 5549–5567, 2013.
- [120] M. M. Rashad, H. M. El-Sayed, M. Rasly and M. I. Nasr, “Induction heating studies of magnetite nanospheres synthesized at room temperature for magnetic hyperthermia”, *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 324, no. 23, pp. 4019–4023, 2012.
- [121] R. M. Taylor and U. Schwertmann, “Maghemite in soils and its origin. ii. maghemite synthesis at ambient temperature and pH 7”, *Clay Miner.*, vol.10, 1974.

- [122] R. M. Taylor, “Influence of chloride on the formation of iron oxides from Fe(ii) chloride. i. effect of [Cl]/[Fe] on the formation of magnetite”, *Clays Clay Miner.*, vol. 32, no. 3, pp. 167–174, 1984.
- [123] G. F. Goya, T. S. Berquó, F. C. Fonseca and M. P. Morales, “Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles” *J. Appl. Phys.*, vol. 94, no. 5, p. 3520, 2003.
- [124] D. Ramimoghadam, M. Z. Bin Hussein and Y. H. Taufiq-Yap, “The effect of sodium dodecyl sulfate (SDS) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) on the properties of ZnO synthesized by hydrothermal method”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, no. 10, pp. 13275–93, 2012.
- [125] R. M. Hafidz, “Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin”, *Int. Food Res. J.*, vol. 18, pp. 813–817, 2011.
- [126] J. E. Eastoe, “The amino acid composition of mammalian collagen and gelatin”, *Biochem. J.*, vol. 61, no. 4, pp. 589–600, 1955.
- [127] Y. S. Mary, L. Ushakumari, B. Harikumar, H. T. Varghese and C. Y. Panicker, “FT-IR, FT-Raman and SERS spectra of L-Proline”, *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 6, pp. 138–144, 2009.
- [128] M. Rosado, “Vibrational spectra of acid and alkaline glycine salts”, vol. 16, no. 1, pp. 35–54, 1998.
- [129] A. De Ninno and A. Congiu Castellano, “Deprotonation of glutamic acid induced by weak magnetic field: an FTIR-ATR study”, *Bioelectromagnetics*, vol. 32, no. 3, pp. 218–25, 2011.
- [130] S. Murside and K. Cemal Güven, “Infrared studies on phyllophora nervosa agar and comparison with various agars and carradeenans”, *Turkish J. Mar. Sci.*, vol. 8, pp. 143–156, 2002.
- [131] L. Zhang, R. He and H.-C. Gu, “Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 253, no. 5, pp. 2611–2617, 2006.
- [132] R. E. Vandenberghe and E. De Grave, *Application of Mössbauer Spectroscopy in Earth Sciences*, in *Mössbauer Spectroscopy*, Springer-Verlag Berlin, 2013.

- [133] M. Gonzales-Weimuller, M. Zeisberger and K. M. Krishnan, “Size-dependant heating rates of iron oxide nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia”, *J. Magn. Mater.*, vol. 321, no. 13, pp. 1947–1950, 2009.
- [134] M. Lévy, C. Wilhelm, J.-M. Siaugue, O. Horner, J.-C. Bacri and F. Gazeau, “Magnetically induced hyperthermia: size-dependent heating power of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles”, *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 20, no. 20, p. 204133, 2008.
- [135] A. Kale, S. Gubbala, and R. D. K. Misra, “Magnetic behavior of nanocrystalline nickel ferrite synthesized by the reverse micelle technique”, *J. Magn. Mater.*, vol. 277, no. 3, pp. 350–358, 2004.
- [136] P. B. Shete, R. M. Patil, R. S. Ningthoujam, S. J. Ghosh and S. H. Pawar, “Magnetic core-shell structures for magnetic fluid hyperthermia therapy application”, *New J. Chem.*, vol. 37, no. 11, p. 3784, 2013.
- [137] P. B. Shete, R. M. Patil, N. D. Thorat, A. Prasad, R. S. Ningthoujam, S. J. Ghosh and S. H. Pawar, “Magnetic chitosan nanocomposite for hyperthermia therapy application: preparation, characterization and in vitro experiments”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 288, pp. 149–157, 2014.
- [138] R. A. Frimpong, J. Dou, M. Pechan and J. Z. Hilt, “Enhancing remote controlled heating characteristics in hydrophilic magnetite nanoparticles via facile co-precipitation”, *J. Magn. Mater.*, vol. 322, no. 3, pp. 326–331, 2010.
- [139] R. Ghosh, L. Pradhan, Y. P. Devi, S. S. Meena, R. Tewari, A. Kumar, S. Sharma, N. S. Gajbhiye, R. K. Vatsa, B. N. Pandey and R. S. Ningthoujam, “Induction heating studies of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles capped with oleic acid and polyethylene glycol for hyperthermia”, *J. Mater. Chem.*, vol. 21, no. 35, p. 13388, 2011.
- [140] M. B. F. O. Costa, “Espectroscopia de Mössbauer e Mecanosíntese”, *Sumário das provas de agregação*, Coimbra, 2007.

Anexos

A. Reagentes

Tabela A.1. Especificações dos reagentes utilizados.

Reagente	Fórmula Química	Marca	Pureza / %
Ácido Oleico	$C_{18}H_{34}O_2$	Sigma-Aldrich	65,0 – 88,0
Ácido sulfúrico	H_2SO_4		96
Ágar	-		2,0 – 4,5
Amônia	H_5NO	Scharlau	25,0
Acetilacetato de Ferro	$C_{15}H_{21}FeO_6$	Sigma-Aldrich	97,0
Brometo de Potássio	KBr	Panreac	-
Brometo de tetradeciltrimetilamônio	$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$	Alfa Aesar	98
Cloreto de Ferro (III)	$Cl_3Fe.6H_2O$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,0$
Dodecil Sulfato de Sódio	$C_{12}H_{25}NaO_4S$	Sigma-Aldrich	$\geq 98,5$
Difenil Éter	$C_{12}H_{10}O$	Sigma-Aldrich	99,0
Hidróxido de Sódio	NaOH	Merck	99,0
Oleilamina	$C_{18}H_{37}N$	Sigma-Aldrich	70,0
Silicato de Sódio	$Na_2O_7Si_3$	Merck	7,5 – 8,5
Sulfato de Ferro (II)	$FeO_4S.7H_2O$	Merck	99,5

Tabela A.2. Advertências perigo, recomendações de prudência e pictogramas dos reagentes utilizados.











Reagentes	Perigo e prudência	Pictograma
Ácido Oleico	H315 + H320 P264 P280 P302 + P352 P305 + P351 + P338 P321 P332 + P313 P337 + P313 P362	
Ácido Sulfúrico	H314 P280 P305 + P351 + P338 P310	
Ágar	Não apresenta perigo	-
Amônia	H314 H335 H400 P261 P273 P280 P305 + P351 + P338 P310	  
Acetilacetato de Ferro	H302 H319 P305 + P351 + P338	
Brometo de Tetradeciltrimetilamônio	H302 H315 H319 H335 H400 P273 P302 + P352 P305 + P351 + P338	 
Cloreto de Ferro (III)	H290 H302 H315 H318 P280 P305 + P351 + P338	 

Tabela A.3. Advertências perigo, recomendações de prudência e pictogramas dos reagentes utilizados.

Reagentes	Perigo e Prudência	Pictograma
Dodecil Sulfato de Sódio	H228 H302 + H332 H315 H318 H335 H412 P210 P261 P273 P280 P305 + P351 + P338	
Difenil Éter	H319 H411 P273 P305 + P351 + P338	
Hidróxido de Sódio	H290 H314 P280 P305 + P351 + P338 P310	
Oleilamina	H314 H400 P273 P280 P305 + P351 + P338 P310	
Silicato de Sódio	H290 H314 H335 P261 P280 P305 + P351 + P338 P310	
Sulfato de Ferro (II)	H302 H315 H319 P305 + P351 + P338	

B. Avaliação das perdas de calor para isolantes de cortiça

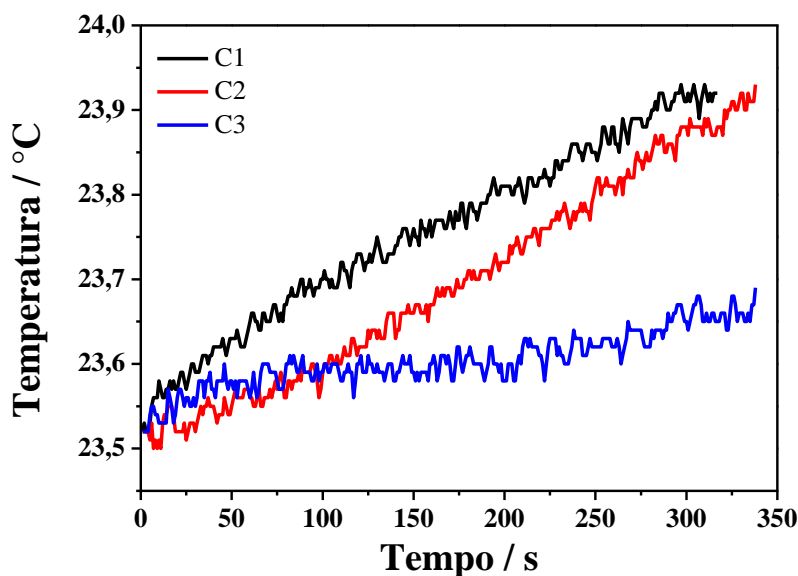


Figura B.1. Curvas de variação de temperatura obtidas no estudo da avaliação de cortiças de diferente granulometria: C1 – baixa granulagem, C2 – média granulagem, C3 – alta granulagem.

C. Espectros de FTIR

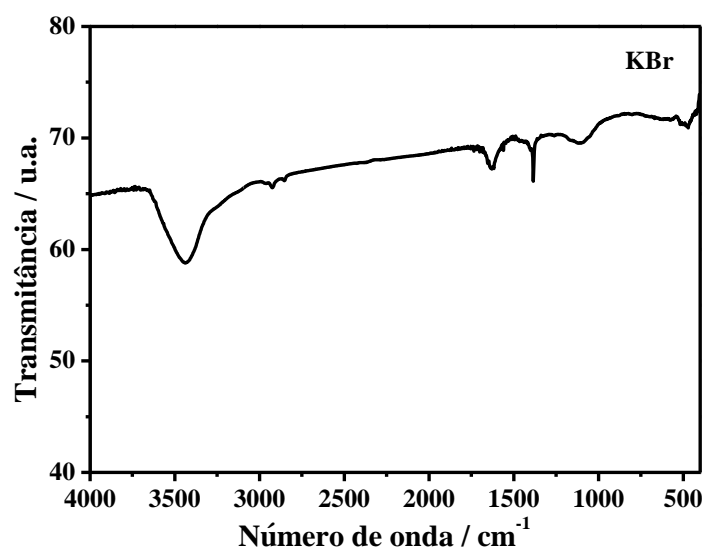


Figura C.1. Espectro de FTIR de KBr, utilizado como dispersante.

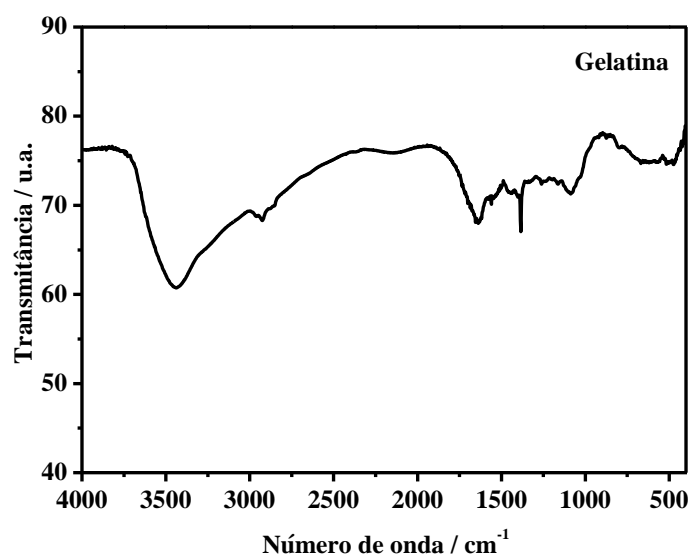


Figura C.2. Espectro de FTIR de uma amostra de gelatina alimentar.

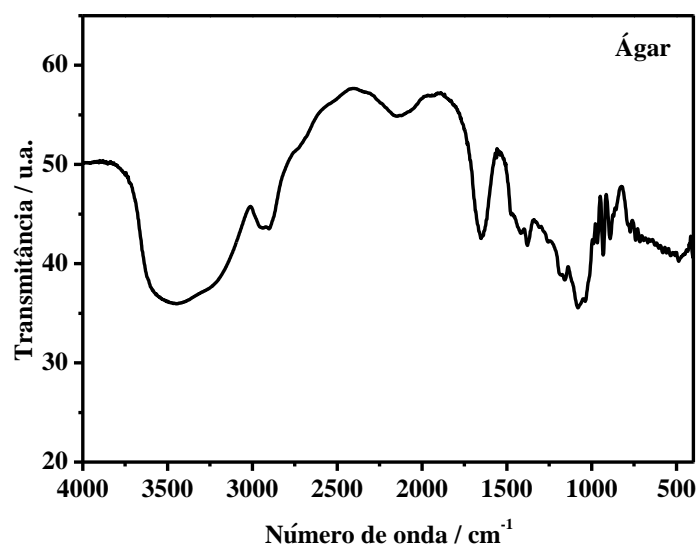


Figura C.3. Espectro de FTIR de uma amostra de ágar.